



***Coenosia attenuata* Stein: Desenvolvimento de metodologias de criação e avaliação de taxas de predação sobre *Diglyphus isaea* (Walker).**

Joana Rita Ferreira Martins

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Doutora Elisabete Tavares Lacerda de Figueiredo Oliveira.

Co-orientador: Doutora Célia Isabel Meirinho Mateus.

Júri:

Presidente: Doutor António Maria Marques Mexia, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutora Maria José Antão Pais de Almeida Cerejeira, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Teresa Ferreira Ramos Nabais de Oliveira Rebelo, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

Doutora Elisabete Tavares Lacerda de Figueiredo Oliveira, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Célia Isabel Meirinho Mateus, Investigadora Auxiliar Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P..

Lisboa, 2011

AGRADECIMENTOS

À avó, a impulsionadora da minha vida, o exemplo, o orgulho, por todos os ensinamentos, coragem e entusiasmo. A força de vontade transmitida foi essencial em todo o percurso académico.

Ao pai e à mãe, a minha vida e o cuidado que tiveram com ela para me permitir estar aqui agora, a educação, os momentos felizes e acima de tudo o amor.

Ao mano, a minha alegria, a presença em todos os momentos e a paciência com que sempre me escutou.

Todas as pessoas que passaram na minha vida nestes últimos anos foram sem dúvida importantes para a chegada a esta fase final, que dá início a um novo ciclo. Mas àqueles que contribuíram, directa ou indirectamente, para que a realização desta dissertação fosse possível, deixo aqui o meu agradecimento.

À minha orientadora, professora Elisabete Figueiredo, um exemplo de coragem e determinação, pelo apoio quer pessoal como profissional, pelo incentivo e liberdade de realização, que me ajudou a crescer.

À minha co-orientadora, Doutora Célia Mateus, por todo o apoio, disponibilidade, boa disposição, entusiasmo, frontalidade e paciência desde o início. Os conselhos preciosos que serão úteis na minha vida profissional.

Ao agricultor Sr. José Firmino, pela simpatia e disponibilização das suas estufas.

Ao Doutor Pedro Manuel Neto Domingos (ITQB) a cedência das primeiras drosófilas utilizadas neste trabalho, da receita da dieta alimentar, dos primeiros recipientes de criação e, ainda, dos contactos de fornecedores.

Ao Dr. Frank Menzel do Deutsches Entomologisches Institut, Eberswalde, pela identificação específica dos esciarídeos.

Ao professor José Carlos Franco pela preocupação demonstrada e dicas úteis para o desenvolvimento do trabalho.

À engenheira Vera Zina, pela ajuda na minha integração no laboratório e insectário do ISA e à Doutora Elsa Borges da Silva pela ajuda nas fotos à lupa. Às duas, a boa disposição e companhia que transmitiram ao longo deste trabalho.

À Júlia Cadete pela ajuda técnica e companhia no laboratório do edifício de entomologia do INIA/ INRB em Oeiras

À D. Teresa Inês Pereira, a boa disposição, o exemplo de força de vontade e toda a disponibilidade demonstrada.

Aos colegas André Garcia, Cíntia Domingues, Joana Marcelino, Raquel Nunes e Susana Leal pelos momentos de boa disposição no trabalho, apoio nas variadas tarefas e amizade.

Ao José Rocheta, a ajuda preciosa na finalização deste trabalho e pela sua presença genuína.

Aos amigos Ana Cadete (a minha Aninha) e Diogo Zibaia, a amizade e presença constante ao longo destes anos, a compreensão, o carinho e o encorajamento que permitiram que este caminho se tornasse mais fácil.

À minha irmã brasileira, Rosângela Payer, por todo o apoio, amizade, compreensão, bom astral que te torna única e ajuda que foram essenciais no decorrer deste trabalho. Obrigada por teres aparecido e continuares presente.

Aos amigos que estiveram sempre presentes nestes anos e contribuíram com momentos de descontração e boa disposição: Vanessa Mealha, Sílvia Tavares, Sara Serranho e Tiago Moura, Vera Esteves, Carla Vinagre, Marta Silva Dias e Francisca Gomes. Fazem com que valha a pena.

A Deus, porque a minha vida sem Ele seria nada e o nada com Ele é tudo.

RESUMO

Coenosia attenuata Stein (Diptera: Muscidae), espécie pertencente ao “grupo *tigrina*”, é reconhecida por vários autores como predadora polífaga, tanto no estado larvar como no estado adulto, de importantes pragas agrícolas.

Com o objectivo de otimizar a criação em massa deste predador, foram adaptadas/ alteradas metodologias de criação desenvolvidas por outros autores. Verificou-se que o maior número de emergências ocorria em substratos com maior número de larvas de esciarídeos e em gaiolas com mais de cinco casais de progenitores. Dos com origem no campo resultou uma maior taxa de sucesso de emergências da geração seguinte, relativamente aos originários da criação em laboratório.

Na optimização do substrato de criação, o maior número de emergências ocorreu no substrato de terra misturado com fibra de coco.

Uma vez que, na ausência de pragas como presas, *C. attenuata* pode atacar organismos auxiliares, avaliou-se também a taxa de predação sobre *Diglyphus isaea*, um parasitóide relevante em culturas de estufa, no nosso país. A maior taxa de predação ocorreu para fêmeas acasaladas de *C. attenuata* e verificou-se que as fêmeas consomem mais indivíduos (em média, 11 por dia) do que os machos (média de 7 por dia) e apresentam, também, maior voracidade no consumo de presas.

Palavras-Chave: *Coenosia attenuata*, criação, *Diglyphus isaea*, predação.

ABSTRACT

Coenosia attenuata Stein (Diptera: Muscidae) is a species that belongs to the tigrina group. It is considered as a generalist predator of agricultural pests in both larval and adult stages. In this work, rearing methods developed by other authors were adapted/ changed in order to improve mass production of this predator. There were more emergences occurring in substrates with larger number of sciariid larvae and in cages with more than five parental couples. Those collected in the field showed higher emergence rates in the next generation when compared with laboratory-reared individuals. Regarding rearing substrate optimization, the highest number of emergences was observed in the substrate constituted by a mixture of soil and coconut coir. In the absence of pests as preys, *C. attenuata* may attack beneficial insects. An evaluation of the consumption rates over *Diglyphus isaea* Walker was also made. *D. isaea* is a common parasitoid relevant in greenhouse systems in Portugal. Mated adult females of *C. attenuata* showed higher predation rates over *D. isaea* than other female categories tested; females captured more individuals (11 per day on average) than males (7 per day on average) and were also more voracious on prey consumption.

Keywords: *Coenosia attenuata*, *Diglyphus isaea*, rearing, predation.

EXTENDED ABSTRACT

Coenosia attenuata Stein (Diptera: Muscidae: Coenosiini) has its origin in the Paleotropical region and it is nowadays distributed worldwide. This species belonging to the *tigrina*-group is mentioned in literature as a generalist predator of agricultural pests in both larval and adult stages.

Rearing methods developed by other authors were adapted/ changed in order to improve mass production of this predator. Initially, a preliminary evaluation of the rearing systems took place taking into account adult and larval preys of *C. attenuata* feed, number of couples mating in each rearing cage and the origin of the parental generation (field or laboratory).

There were more emergences occurring in substrates with larger number of sciarid larvae and in cages with more than five parental couples. Those collected in field showed higher emergence rates in the next generation when compared with laboratory-reared individuals. Substrates with larger number of sciarid larvae had a longer period of emergences.

Regarding rearing substrate optimization, three different combinations of soil and coconut coir were used, as well as five parental couples. All substrates tested included oat inoculated with *P. ostreatus*. The higher number of emergences was observed in the substrate constituted by a mixture of soil and coconut.

Increasing minimum, maximum or mean temperatures in the growth chamber led to a shorter period of mating, oviposition and development for *C. attenuata*.

In the absence of pests as preys, *C. attenuata* may attack beneficials. An evaluation of the consumption rates over the parasitoid *Diglyphus isaea* Walker (Hymenoptera: Eulophidae) was also an objective of this work.

There were 5 modalities of *C. attenuata* individuals combining different sex and age of the individuals. Statistical analysis showed significant differences between modalities. Mated adult females of *C. attenuata* showed higher predation rates over *D. isaea* than other female categories tested; females captured more individuals (11 per day on average) than males (7 per day on average). Puncture wounds in the preys were visually assessed and classified as three types: Type I, II and III. The puncture type was then associated with the final state of the prey, indicating the degree of *C. attenuata* adults voracity. Types II and III corresponded to a more voracious consumption of the prey. "Old" females predated more individuals through type II punctures whereas mated females through type III punctures.

Keywords: *Coenosia attenuata*, *Diglyphus isaea*, rearing, predation.

INDICE

AGRADECIMENTO	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
EXTENDED ABSTRACT	v
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE QUADROS	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. CARACTERIZAÇÃO DE <i>Coenosia attenuata</i> - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Classificação taxonómica e nomes vulgares	3
2.2. Origem e Distribuição geográfica	3
2.3. Morfologia, bioecologia e comportamento	4
2.4. Perspectiva como agente de luta biológica	11
3. CRIAÇÃO DE <i>Coenosia attenuata</i> EM LABORATÓRIO	13
3.1. INTRODUÇÃO	13
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.2.1. CRIAÇÃO DE ESCIARÍDEOS	15
3.2.2. CRIAÇÃO DE DROSÓFILAS	19
3.2.3. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE METODOLOGIAS DE CRIAÇÃO DE <i>Coenosia attenuata</i>	20
3.2.4. OPTIMIZAÇÃO DO SUBSTRATO DE CRIAÇÃO	25
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.3.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE METODOLOGIAS DE CRIAÇÃO DE <i>Coenosia attenuata</i>	27
3.3.2. OPTIMIZAÇÃO DO SUBSTRATO DE CRIAÇÃO	35
4. AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREDACÃO SOBRE <i>Diglyphus isaea</i>	39
4.1. INTRODUÇÃO	39
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	39
4.2.1. Individualização de pupas de <i>Coenosia attenuata</i>	39
4.2.2. Ensaio de predação com <i>Diglyphus isaea</i>	40
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5. CONCLUSÕES	52
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXOS	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de distribuição geográfica mundial de <i>C. attenuata</i> (a sinalização indica presença nesse país)	3
Figura 2 – Ciclo de evolutivo de <i>Coenosia attenuata</i> a 25°C (adaptado de Kühn,1998). (originais da autora, excepto adulto, de Rosângela Payer)	5
Figura 3 – Ovo de <i>Coenosia attenuata</i> (original da autora)	5
Figura 4 – Larva de <i>Coenosia attenuata</i> (original da autora)	6
Figura 5 – Pupa de <i>Coenosia attenuata</i> (original da autora)	6
Figura 6 – Macho e fêmea de <i>Coenosia attenuata</i> , respectivamente (originais da autora)	7
Figura 7 – Metodologia de criação de <i>Coenosia</i> spp. em criação artificial e em estufa (adaptado de Moreschi e Colombo, 1999)	13
Figura 8 – Visão geral da câmara de criação (à esquerda) e estante com gaiolas de criação de esciarídeos (à direita) (originais da autora)	16
Figura 9 – Massa compacta de aveia: substrato de criação inicial (originais da autora)	16
Figura 10 – Gaiola com caixas de substrato de criação de esciarídeos (terra misturada com aveia inoculada com <i>Pleurotus ostreatus</i>) (originais da autora)	17
Figura 11 – Asa de adulto da família Sciaridae (fonte: www.diptera.info)	18
Figura 12 – Caixas de Petri com adultos de esciarídeos para identificação à família. (original da autora)	18
Figura 13 – Aspirador entomológico utilizado na transferência de indivíduos entre gaiolas	19
Figura 14 – Recipientes de criação de drosófilas (original da autora)	19
Figura 15 – Estufa de pepino da região Oeste onde se recolheram os adultos de mosca tigre para início de criação em laboratório (originais da autora)	20
Figura 16 – Captura de mosca tigre na estufa de pepino da região Oeste (original da autora) ...	20
Figura 17 – Pesagem da amostra de substrato de criação para observação e contagem de larvas de esciarídeos	21
Figura 18 – Gaiola de criação de <i>Coenosia attenuata</i> , com poleiro em ferro e caixa de substrato para postura.....	22
Figura 19 – Caixas de plástico com substrato de criação – Tipo 1, Tipo 2 e Tipo 3 respectivamente (originais da autora)	22
Figura 20 – Gaiola de criação de <i>Coenosia attenuata</i> com caixa de substrato para observação de emergências (original da autora)	23
Figura 21 – Substratos Tipo FCT (fibra de coco intercalada com terra), T (terra rica em matéria orgânica) e M (mistura de terra e fibra de coco), respectivamente, para criação de mosca tigre (originais da autora).....	25
Figura 22 – Número médio de indivíduos de <i>Coenosia attenuata</i> emergidos (e respectivos erros padrão da média) em função do número de casais progenitores; letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5%	29
Figura 23 – Regressão linear entre o número de larvas de esciarídeos existente no substrato e o número total de indivíduos <i>Coenosia attenuata</i> emergidos	30
Figura 24 – Duração média do período de APD (e respectivos erros padrão da média), em dias, para a descendência obtida com diferente nº de casais (1, 5 e 10), por gaiola de criação; letras diferentes correspondem a medianas que diferem significativamente entre si, para um nível de significância de 5%	31

Figura 25 – Regressão linear entre a temperatura média (°C) e a duração do período de APD	33
Figura 26 – Duração média do período de emergências (e respectivos erros padrão da média), em dias, com diferente número de casais (1, 5 e 10), por gaiola de criação; letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5%	34
Figura 27 – Número médio de larvas de esciarídeos existente nos diferentes substratos (e respectivos erros padrão da média); letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5%	36
Figura 28 – Número médio de indivíduos emergidos nos diferentes substratos (e respectivos erros padrão da média); letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5%	37
Figura 29 – Razão sexual média obtida nos diferentes substratos (e respectivos erros padrão da média); letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5%	37
Figura 30 – Câmara climatizada (a) e caixas com as pupas de <i>C. attenuata</i> individualizadas (b e c) (originais da autora)	40
Figura 31 – Gaiolas acrílicas de colocação dos adultos de mosca tigre após a emergência (originais da autora)	40
Figura 32 – Metodologia usada para as diferentes modalidades	42
Figura 33 – Esquema da realização do ensaio de predação (originais da autora)	43
Figura 34 - <i>Diglyphus isaea</i> predados por <i>Coenosia attenuata</i> com furos do Tipo I (A), Tipo II (B) e Tipo III (C) (originais da autora)	44
Figura 35 – Médias do nº de indivíduos predados com cada um dos três tipos de furo nas modalidades de fêmeas de <i>C. attenuata</i> virgens, “jovens” e “velhas”	47
Figura 36 – Médias do nº de indivíduos predados com cada um dos três tipos de furo nas modalidades de fêmeas de <i>C. attenuata</i> acasaladas, “jovens” e “velhas”	48
Figura 37 – Caixas de bigodes com a distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados por hora (durante as 24 horas do ensaio) (C) para a modalidade fêmea virgem jovem	49
Figura 38 – Caixas de bigodes com a distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados por hora (durante as 24 horas do ensaio) (C) para a modalidade fêmea acasalada jovem	49
Figura 39 – Caixas de bigodes com a distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados por hora (durante as 24 horas do ensaio) (C) para a modalidade fêmea acasalada velha	50
Figura 40 – Caixas de bigodes com a distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados por hora (durante as 24 horas do ensaio) (C) para a modalidade fêmea virgem velha	50
Figura 41 – Caixas de bigodes com a distribuição dos valores do consumo (%Predados/Disponíveis) (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados por hora (durante as 24 horas do ensaio) (C) para a modalidade macho	51

INDICE DE QUADROS

Quadro 1 – Zero de desenvolvimento (t_0), somatório de temperaturas efectivas ($^{\circ}\text{dia}$) e duração do desenvolvimento dos estados imaturos de <i>C. attenuata</i> (adaptado de Kühne, 2000)	8
Quadro 2 – Número de gaiolas com um casal onde não ocorreram emergências de <i>Coenosia attenuata</i>	27
Quadro 3 – Número de gaiolas com um casal com origem na criação de laboratório com e sem ocorrência de emergências de <i>Coenosia attenuata</i>	28
Quadro 4 – Número de gaiolas com um casal com origem no campo com e sem ocorrência de emergências de <i>Coenosia attenuata</i>	28
Quadro 5 – Taxas de predação de <i>D. isaea</i> para as modalidades “acasalamento” e “idade” para fêmeas de <i>Coenosia attenuata</i>	46
Quadro 6 – Média e erro padrão da média para o tipo de predação, tendo em conta o conjunto das fêmeas de todas as modalidades	46
Quadro 7 – Média e erro padrão da média para o tipo de predação nos machos	46
Quadro 8 - Teste de Mann-Whitney para a comparação dos diferentes tipos de predação em relação aos machos e fêmeas de <i>Coenosia attenuata</i>	47

1. INTRODUÇÃO

Coenosia attenuata Stein, mais conhecida como mosca tigre, foi detectada em Portugal, pela primeira vez, em 2002. Tendo a sua origem geográfica na região Paleotropical, encontra-se neste momento distribuída mundialmente, em vários sistemas agrícolas (Hennig, 1964; Kühne, 2000).

Esta espécie, como quatro outras espécies pertencentes ao mesmo género e que estão agrupadas no denominado “grupo *tigrina*” (Hennig, 1964), é reconhecida por vários autores como predadora polífaga, tanto no estado larvar como no estado adulto (Moreschi e Süss, 1998).

Facilmente se reconhece a potencial importância de *C. attenuata* no controlo das principais pragas em culturas protegidas, uma vez que esta mosca apresenta características únicas, tais como: ser o único predador conhecido do estado adulto de moscas brancas e de outras importantes pragas de estufa (Kühne, 1998); apresentar resistência a temperaturas elevadas (Gilioli *et al.*, 2005); ser predador enquanto larva e adulto (Moreschi e Colombo, 1999); e o facto do seu instinto predador levá-la por vezes a capturar e matar presas sem as consumir (Martinez e Cocquempot, 2000).

No que respeita à avaliação dos efeitos de *C. attenuata* e outras espécies do grupo *tigrina* em estufas, a maioria dos estudos foi publicada por Kühne (1994, 1997b, 1998). Com base na longevidade e taxas de predação, este autor seleccionou *C. attenuata* e *C. strigipes* como as espécies do grupo *tigrina* com maior potencial para a luta biológica em relação a pragas em estufas (Kühne, 2000).

No entanto, alguns aspectos referentes à bioecologia destes predadores ainda não foram clarificados. Desconhece-se a sua eficiência de predação e compatibilidade com outros auxiliares, assim como o papel do canibalismo na regulação da densidade populacional da espécie. De facto, os conhecimentos relativos à sua ecologia, ao comportamento e ao desenvolvimento ainda são muito escassos.

O trabalho decorreu no âmbito do projecto PTDC/AGR-AAM/099723/2008 “*FLYPRED - Que papel para a mosca-tigre na luta biológica em culturas protegidas?*”, financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

Os principais objectivos deste trabalho consistiram na adaptação e optimização de metodologias de criação em massa de *C. attenuata* descritas na bibliografia e na avaliação da taxa de predação sobre um parasitóide importante na limitação natural de uma praga chave de culturas protegidas – *Diglyphus isaea* Walker (Hymenoptera: Eulophidae), seleccionado por se encontrar disponível comercialmente.

Este último objectivo insere-se num objectivo mais amplo do referido projecto de investigação, que pretende avaliar o impacto da predação da mosca tigre nas populações e auxiliares presentes em culturas protegidas.

No que se refere à criação pretendeu-se desenvolver uma metodologia de criação que permitisse a obtenção de moscas tigre quer para os ensaios a desenvolver no projecto quer para uma eventual instalação de unidades de criação nas estufas num sistema de “open rearing” permitindo o aumento de populações de mosca tigre nessas infra-estruturas.

Tendo em consideração o que foi dito anteriormente, este trabalho foi estruturado em cinco capítulos. Após a introdução, é apresentada a caracterização de *C. attenuata* com base na bibliografia consultada. No terceiro capítulo descreve-se o processo de adaptação e melhoramento da metodologia de criação em massa de *C. attenuata* em laboratório, tendo-se efectuado uma introdução inicial com uma pequena revisão bibliográfica sobre criação e, posteriormente a descrição dos materiais e métodos, resultados obtidos e sua discussão. No quarto capítulo, avaliou-se a taxa de predação sobre *D. isaea*, sendo que, primeiro se apresenta uma introdução sobre estudos de taxas de predação para *C. attenuata* e, em seguida, se descreve a metodologia, os resultados obtidos e a sua discussão. No quinto e último capítulo, são apresentadas as conclusões deste trabalho.

2. CARACTERIZAÇÃO DE *Coenosia attenuata* – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Classificação taxonómica e nomes vulgares

A espécie *Coenosia attenuata* Stein, 1903 (Diptera: Muscidae: Coenosiini) e quatro outras espécies pertencentes ao mesmo género constituem o denominado “grupo *tigrina*” (Skidmore, 1985). Na actualidade, o género *Coenosia* já não está associado à família Anthomyiidae como originalmente, mas sim à família Muscidae (Hennig, 1964).

As denominações vulgarmente atribuídas a *C. attenuata* estão relacionadas com a língua de cada país. Em Portugal é conhecida como “mosca tigre” (Pinho *et al.*, 2009), na Alemanha é vulgarmente tratada por “räuberische fliege” (Schrameyer, 1991, Kühne 2000); outras denominações como “mosca cazadora” (Martínez-Sánchez *et al.*, 2002) e “hunter fly” (Pons, 2005) são usadas em espanhol e inglês, respectivamente.

2.2. Origem e Distribuição geográfica

A origem geográfica de *C. attenuata* não é consensual. Segundo Hennig (1964) e Kühne (2000) é originária da região Paleotropical, mas segundo Pons (2005) teve origem na Europa. Contudo, esta espécie existe numa área mais abrangente, que inclui para além da Europa, o norte de África, parte da região Afro-tropical, o extremo Oriente, Ásia, Macronésia e a Australásia (Pont, 1986).

Actualmente, *C. attenuata*, e aliás o género *Coenosia*, encontra-se distribuído mundialmente, em vários sistemas agrícolas (Figura 1).



Figura 1 – Mapa de distribuição mundial de *Coenosia attenuata* (a sinalização indica presença nesse país) (fonte: www.100porcentoaprendizagem.blogspot.com/).

O primeiro registo de *C. attenuata* em estufas deveu-se a Freidberg e Gijswijt (1983), no seguimento de observações aos inimigos naturais da *Liriomyza trifolii* (Burgess in Comstock) (Diptera: Agromyzidae) (larva mineira) em Israel. Em 1991, Colombo e Eördegh relatam a existência de populações de *C. attenuata* em estufas na região de Lombardia, Itália. Schrameyer (1991) identificou a presença de *C. attenuata* e *Coenosia humilis* Meigen (também do grupo *tigrina*) em estufas na Alemanha, constituindo o primeiro registo de *C. attenuata* neste país.

Posteriormente, foi detectada a presença de *C. attenuata* em estufas no Equador e em amostras de solo recolhidas ao ar livre, no Perú (Martínez-Sánchez *et al.*, 2002). Hoebeke *et al.*, (2003) foi quem referiu pela primeira vez a ocorrência de *C. attenuata* na América do Norte, mais concretamente em estufas no estado de Nova Iorque e em Ontário, no Canadá. Na Europa, esta espécie foi, ainda, detectada na Holanda (Blind, 1999), Turquia (Pohl *et al.*, 2003), Espanha (Rodríguez e Aguilera, 2002) e Portugal (Prieto *et al.*, 2005).

A relação entre a distribuição geográfica de *C. attenuata* em estufas e a sua distribuição no exterior, ao ar livre, não é conhecida. No entanto, reconhece-se que as condições em estufa fomentam taxas de crescimento mais elevadas e promovem a proliferação de populações já presentes em níveis baixos no ambiente exterior. Considera-se, assim, possível que as trocas de material vegetal proveniente de estufas tenham facilitado uma expansão geográfica de certa forma artificial da referida espécie (Sensenbach, 2004).

2.3. Morfologia, bioecologia e comportamento

A biologia de *C. attenuata*, em particular a dos seus estados imaturos, é pouco conhecida. Grande parte dos estudos sobre a biologia desta espécie, especialmente no estado adulto, foi conduzida por Kühne (1997b, 2000), apesar de trabalhos realizados por Moreschi e Süss (1998) e por Sensenbach (2005) serem também relevantes.

Ciclo de vida, morfologia, e fases de desenvolvimento

O ciclo de vida de *C. attenuata* inclui os estados de ovo, larva, pupa e adulto (Figura 2).

Desde a postura dos ovos à emergência dos adultos, decorre um período de 40 a 43 dias a uma temperatura de 20°C, mas a 25°C esse período é inferior, de 26 a 27 dias (Kühne, 2000). A duração do ciclo de vida é pouco variável entre *C. attenuata*, *C. humilis* e *Coenosia strigipes* Stein.

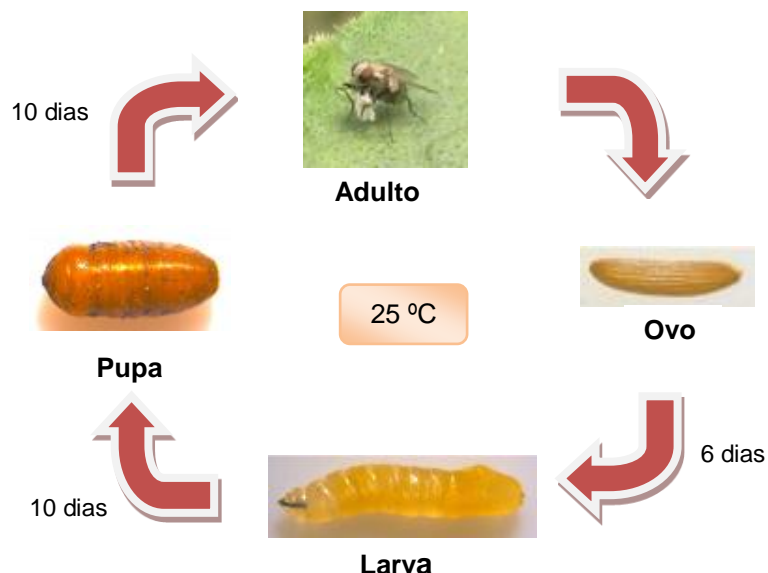


Figura 2 – Ciclo de evolutivo de *Coenosia attenuata* a 25°C (adaptado de Kühne,1998) (originais da autora, excepto adulto, de Rosângela Payer).

Ovo

O ovo de *C. attenuata* (Figura 3) é castanho claro (Moreschi e Süß, 1998) e achatado na parte ventral (Kühne *et al.*, 1997b). Mede cerca de 0,88 mm de comprimento e 0,30 mm de largura (Kühne, 2000).

O período de incubação, verificado por Moreschi e Süß (1998), foi de 4 a 6 dias a 25°C. A duração do desenvolvimento embrionário é influenciada pela temperatura (Moreschi e Süß, 1998), assim como a taxa de eclosão, que aumenta para temperaturas superiores a 21°C (Moreschi e Süß, 1998; Kühne, 2000).

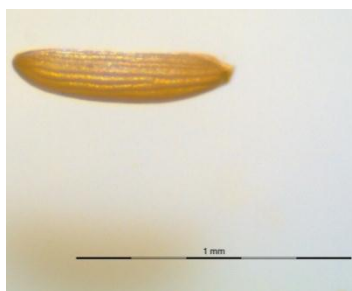


Figura 3 – Ovo de *Coenosia attenuata* (original da autora).

Larva

A larva neonata de *C. attenuata* (Figura 4) é translúcida e com dimensões médias de 1,26 mm de comprimento por 0,20 mm de largura. A larva é provida de uma potente armadura bucal trituradora, que lhe permite perfurar o tegumento de artrópodes com dois ganchos bucais (Moreschi e Süß, 1998).

Segundo LeRoux e Perron (1960) e Kühne (2000), *C. attenuata*, à semelhança de *Coenosia tigrina* (Fab.) e de *Coenosia strigipes*, pode eclodir do ovo num terceiro instar larvar apesar dos primeiros autores não terem conseguido observar exúvias de instares anteriores no interior do ovo. Esta hipótese é também mencionada por Sensenbach (2004) e Ugine *et al.*, (2010). Assim sendo, pode-se considerar que ocorre apenas um instar larvar entre a eclosão do ovo e a formação da pupa.

O desenvolvimento larvar em condições climáticas óptimas (25°C e 70% HR) tem duração de 10 dias, segundo Kühne *et al.*, (1996).

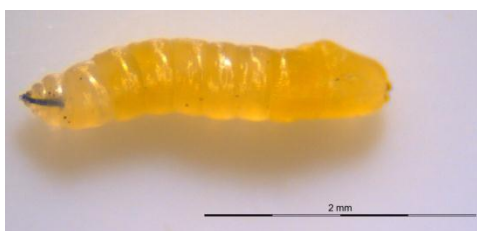


Figura 4 – Larva de *Coenosia attenuata* (original da autora).

Pupa

A pupa, coartacta, de *C. attenuata* (Figura 5) mede cerca de 3,00 a 3,27 mm de comprimento e 1,27 mm de largura, apresenta cor amarelo-acastanhada, é fortemente esclerotizada e em forma de barril (Kühne, 2000; Martinez e Cocquempot, 2000).

As pupas evidenciam o dimorfismo sexual dos adultos, sendo as das fêmeas maiores que as dos machos (Moreschi e Süss, 1998).

A duração do desenvolvimento pupal difere consoante os autores. Para a mesma temperatura, 25°C, são apresentadas três durações diferentes: Moreschi e Süss (1998), indicam 20 dias, Moreschi e Colombo (1999) apresentam um valor de aproximadamente 15 dias, o que está mais próximo dos 10,5 dias relatados por Kühne (1997b).



Figura 5 – Pupa de *Coenosia attenuata* (original da autora).

Adulto

Os adultos de *C. attenuata* exibem um marcado dimorfismo sexual (Figura 6), apresentando um comprimento de 2,5 mm a 4 mm.

A fêmea é relativamente maior do que o macho, chegando aos 4 mm, com corpo acinzentado e abdômen com três bandas escuras bem marcadas, antenas negras, fêmures escuros e tíbias amarelas.

O macho pode medir 2,5 mm a 3 mm e é totalmente acinzentado, com antenas amarelas, assim como as patas, que apenas apresentam um ligeiro acastanhamento ao nível dos tarsos médio e posterior (Kühne, 2000; Martinez e Cocquempot, 2000).

Segundo Kühne (2000), a longevidade da fêmea é de 95 dias, a 25°C e HR de 50-60%, atingindo 102 dias em condições de estufa. As fêmeas apresentaram, sempre, maior longevidade do que os machos.



Figura 6 – Macho (2,5 mm) (original da autora) e fêmea (4mm) (original de A. D. Mil-Homens) de *Coenosia attenuata*, respectivamente.

A determinação do zero de desenvolvimento (t_0), temperatura abaixo da qual não ocorre desenvolvimento e do somatório de temperaturas efectivas para cada estado de desenvolvimento é de elevada importância, por exemplo, quando se pretende otimizar a criação em massa desta espécie e coordenar o seu desenvolvimento com o das suas presas.

Os ritmos de crescimento e desenvolvimento correlacionam-se com o número de graus de temperatura que se somam durante determinado período, ou seja, com o somatório de unidades térmicas - somatório de temperaturas efectivas, este parâmetro permite a comparação do ciclo de vida e é expresso em graus-dia (°dia) (Carvalho, 1986; Gullan e Cranston, 1994).

Kühne (2000) indica a duração do desenvolvimento em dias, o zero de desenvolvimento (t_0) e o somatório de temperaturas efectivas dos estados imaturos de *C. attenuata* (Quadro 1).

Quadro 1 – Zero de desenvolvimento, somatório de temperaturas efectivas e duração do desenvolvimento dos estados imaturos de *Coenosia attenuata* (adaptado de Kühne, 2000).

	Zero de desenvolvimento (t_0) (°C)	Somatório de temperaturas efectivas (°C dia)	Duração do desenvolvimento a 25°C (dias)
Ovo	2,0	131	5,7
Larva	12,7	128	10,4
Pupa	13,2	124	10,5

Reprodução

Os conhecimentos sobre reprodução de *C. attenuata* são muito escassos, contudo Morris e Cloutier (1987) realizaram um extenso trabalho sobre o desenvolvimento e reprodução de *Coenosia tigrina*, podendo haver algumas semelhanças com *C. attenuata*.

Segundo Morris e Cloutier (1987), *C. tigrina* não apresenta um comportamento pré-copulatório especial. As fêmeas casualmente recusam os machos mantendo o abdómen curvado. Ocorrem múltiplas cópulas, e podem copular, produzindo descendência viável, 24 horas após a emergência e sem alimento. Este resultado parece estar em contradição com a referência à existência de período de pré-postura (período entre emergência e início de postura) de uma a três semanas, efectuada pelos mesmos autores e no mesmo trabalho.

Os mesmos autores referem, também, que a fecundidade dos ovos de *C. tigrina* é significativamente afectada pela: temperatura a que a fêmea se encontra; temperatura de incubação dos ovos; idade da fêmea; e interacção entre estes três parâmetros.

Referem, ainda, que os adultos do grupo *tigrina* poderão estar mais bem adaptados a temperaturas de 25°C do que a 15°C ou 20°C, em termos de reprodução. À temperatura de 25°C a fecundidade de *C. tigrina* atinge em média 230 ovos, na presença constante de machos. Verificaram, também, que o número de machos não influencia o número de ovos postos pela fêmea de *C. tigrina*, mas influencia o período de pré-postura que tende a decrescer com o aumento do número de machos presentes (Morris e Cloutier, 1987).

Contudo, sabe-se que a postura é um processo cíclico, não contínuo, com as fêmeas a fazerem posturas em lotes de dez a trinta ovos, em intervalos de um a vários dias (Morris e Cloutier, 1987). Já segundo Moreschi e Süss (1998), a fêmea de *C. attenuata* faz uma postura de 4 a 6 ovos distanciados uns dos outros, podendo depositar continuamente até 26 ovos, procurando em seguida um novo local para postura. As fêmeas põem os ovos nas microfissuras do terreno devido ao encurvamento do abdómen, até uma profundidade de 5 mm.

Kühne *et al.*, (1997b) referiu que ocorre um período de pré-postura com a duração de cerca de quatro dias para *C. attenuata* e que grande parte dos ovos (92%) era colocada durante um período de três semanas a 25°C (Kühne, 2000).

Actividade alimentar

Coenosia attenuata, assim como espécies do género *Coenosia* pertencentes ao grupo *tigrina*, é reconhecida por vários autores como predadora polífaga, tanto no estado larvar como no estado adulto (Evans, 1930; Le Roux e Perron, 1960; Morris e Cloutier, 1987; Schrameyer, 1991; Moreschi e Süss, 1998; Kühne, 2000; Téllez e Tapia, 2006).

Moreschi e Süss (1998) referem que as larvas são predadoras de larvas de esciarídeos e de minhocas. Os adultos de *C. attenuata* são predadores de adultos de diversos insectos pertencentes, principalmente, às ordens Diptera e Hemiptera (Martinez e Cocquempot, 2000). As principais presas por eles consumidas estão mencionadas em 2.4.

É ainda referido um comportamento de canibalismo entre os adultos e entre as larvas de *C. attenuata* quando escasseia o alimento (Kühne, 2000). O fenómeno de canibalismo entre larvas foi observado directamente por Morris e Cloutier (1987) em *C. tigrina*; no entanto, o canibalismo entre larvas de *C. attenuata*, nunca foi observado. Contudo, quer Kühne (2000) quer Sensenbach (2004) apesar de não terem observado directamente o canibalismo entre larvas, pressupõem que poderá ocorrer, com base nos seus resultados.

Comportamento de predação

Os adultos de *C. attenuata* esperam as suas presas, capturando-as em voo. Segundo Colombo e Eördegh (1991), para tal usam o primeiro par de patas mas, segundo Kühne (2000) usam as seis patas. O tegumento da presa é rompido por um dente em forma de punhal no centro da placa labial e, por meio da superfície do labelo, bem esclerotizado, forma-se uma língua raspadora que auxilia a digestão mecânica (Kühne, 2000).

Colombo e Eördegh (1991) afirmaram que o conjunto das actividades de predação e alimentação dura cerca de 30 a 40 segundos, se bem que para presas de maiores dimensões a sucção da hemolinfa possa demorar vários minutos.

Se bem que os adultos e larvas de *C. attenuata* sejam capazes de se alimentar de presas variadas, os seus principais critérios de escolha passam pelo tamanho e pela mobilidade das suas presas (Martinez e Cocquempot, 2000).

C. attenuata possui instinto de predação que a torna um promissor agente de luta biológica, uma vez que captura e mata numerosas presas sem as consumir (Martinez e Cocquempot, 2000).

A temperatura e a idade são factores que interferem na actividade de predação. Entre 15°C e 30°C, *C. attenuata* apresenta-se mais activa e rápida (Moreschi e Süss 1998; Martinez e Cocquempot, 2000). Gilioli *et al.*, (2005) refere que *C. attenuata* apresenta boa actividade predadora para um largo intervalo de temperaturas (12 - 36°C) e mesmo a 42°C os ataques continuam a ocorrer. Indivíduos mais velhos de *C. attenuata* tornam-se lentos e falham muitas vezes a presa que tentavam atingir (Martinez e Cocquempot, 2000; Moreschi e Süss 1998).

Hospedeiros

Os adultos de *C. attenuata* esperam as suas presas, apresentando um comportamento de “sit and wait” entre tentativas de captura, perseguindo apenas presas voadoras (Schrameyer, 1991). Assim, os locais dentro da estufa, onde se encontram preferencialmente dependem da boa visibilidade que conseguirem. Na generalidade, encontram-se poisadas no estrato superior das plantas, usualmente sobre os caules e páginas superiores das folhas apicais, mas também sobre fios e tutores das plantas (Colombo e Eördegh, 1991).

Segundo Prieto (2005), na cultura de tomate e pimento, *C. attenuata* escolhe preferencialmente o estrato superior, tutor e folhas em detrimento do caule, fruto ou plástico. Refere, ainda, que poderá haver uma maior apetência do predador para a cultura de pimento do que para a cultura do tomate, na região Oeste de Portugal. Esta observação é também verificada por Pinho *et al.*, (2009), que no entanto refere que em comparação com o tomate e pimento, a cultura de pepino apresenta uma maior abundância deste predador. Em relação à exposição solar, *C. attenuata* apresenta preferência pelas linhas soalheiras nas estufas (Pinho *et al.*, 2009).

Dinâmica populacional

Existem poucos registos sobre a presença de *C. attenuata* em estufas ao longo do ano.

Em Itália, a espécie está presente nas estufas praticamente todo o ano, com um pico de abundância de Julho a Outubro, alcançando um máximo de 5 indivíduos/m² (Moreschi, 1999).

Segundo Rodríguez e Lirola (2002), a espécie também foi localizada durante todo o ano em estufas da região de Almeria (Espanha), se bem que nos meses mais frios se observaram menores populações.

Na Alemanha, Kühne (2000) refere que *C. attenuata* coloniza as culturas protegidas a partir do exterior, completando o ciclo de vida no solo das estufas e conseguindo-se estabelecer aí por um largo período de tempo.

Em Portugal, julga-se estar distribuída por todo o continente e ilhas e encontra-se presente nas estufas da região Oeste, durante todo o ano (Prieto *et al.*, 2005; Pinho *et al.*, 2009).

2.4. Perspectiva como agente de luta biológica

Schrameyer (1991), ao observar adultos de *C. attenuata* e *C. humilis* em estufas na Alemanha, listou as seguintes espécies como sendo predadas: mosca branca (Aleyrodidae); esciarídeos (Sciaridae); larva mineira (Agromyzidae) e cigarrinha verde (Cicadellidae). Moreschi e Süss (1998) registaram observações semelhantes para *C. attenuata* e *C. humilis*, acrescentando Drosophilidae (mosca do vinagre) e Dolichopodidae (*Dolichopus* spp.) às famílias atacadas por adultos de *C. attenuata*.

Enquanto a gama de presas de *C. attenuata* sugere que este predador pode ser altamente desejável em estufas como agente de luta biológica, a sua eficácia no controlo de pragas, continua pouco entendida.

No que respeita à avaliação dos efeitos de *C. attenuata* e de outras espécies do grupo *tigrina* em estufas, com base na longevidade e taxas de predação, Kühne (2000) seleccionou *C. attenuata* e *C. strigipes* como as espécies do grupo *tigrina* com maior potencial para luta biológica de pragas em estufa.

As taxas de predação diárias de *C. attenuata* sobre *Bradysia paupera* Tuomikoski, (Sciaridae) e *Drosophila (Sophophira) melanogaster* Meigen (Drosophilidae), são de 6,9 e 1,5 presas por dia, respectivamente (Kühne *et al.*, 1997a, Kühne, 2000)

Kühne (1998) advoga o recurso a sistemas de produção que suportem o aumento do número de moscas tigre nas estufas. Uma vez que as larvas se desenvolvem no solo, um dos pontos críticos do sistema pode residir no aprovisionamento de um substrato, no caso o solo, que mantenha viável a longo prazo, o desenvolvimento das larvas.

Dadas as características únicas deste predador, a criação em massa para largadas em culturas protegidas é um objectivo comum na procura de uma mudança na estratégia de protecção. Existem autores que relatam a realização de largadas (Kühne, 1998; Eilenberg *et al.*, 2000), no entanto são pouco esclarecedores em relação aos resultados obtidos, sinal de que ainda há muito a aprender sobre estas espécies, como em seguida se descreve.

Entre 1995 e 1997, a empresa Katz Biotech Services (Welzheim, Alemanha) realizou vários ensaios em que populações de *C. attenuata* e *C. humilis*, produzidas em massa, foram libertadas em estufas de diferentes locais da região de Baden-Württemberg (Alemanha), Kühne (2000) apenas refere estes ensaios sem apresentar resultados. Segundo Prieto (2002), duas das empresas que forneciam *C. attenuata* e *C. strigipes* como agentes de luta biológica na Alemanha abandonaram as linhas de produção uma vez que a criação era difícil e não se justificava economicamente. *C. attenuata* e *C. humilis* foram sugeridas por

Eilenberg *et al.*, (2000) como sendo comercialmente viáveis na Dinamarca, não havendo, no entanto, informação disponível quanto à sua eficácia.

Na perspectiva de luta biológica, o fenómeno de canibalismo por parte de *C. attenuata*, deve também ser considerado, uma vez que, num programa de largadas, havendo uma taxa de largada excessiva, pode ocorrer canibalismo, o que resultaria no desperdício deste auxiliar. Assim, a introdução deste predador deve ser direccionada para a conservação – limitação natural, com largadas inoculativas, aumentativas ou sazonais.

Para além da intensa actividade de predação, que é evidenciada por diversos autores, deve-se ter em conta o seu instinto de predação, que faz reforçar o estatuto de auxiliar em luta biológica, uma vez que, como já foi referido, mata numerosas vitimas sem se alimentar ou alimentando-se parcialmente delas (Martinez & Cocquempot, 2000).

É, ainda, importante referir que embora haja um grande leque de insectos na dieta alimentar de *C. attenuata*, é mencionado por vários autores a existência de compatibilidade com insectos auxiliares naturais ou introduzidos. Martinez e Cocquempot (2000) indicam *Dacnusa sibirica* Telenga, *Eretmocerus* spp, *Macrolophus* sp. e *Orius* sp. como compatíveis. Nas experiências levadas a cabo por Kühne (1998) são citados os parasitóides *Encarsia formosa* Gahan e *D. sibirica* como compatíveis com a presença deste predador.

Téllez e Tapia (2006) referiram que a presença de populações naturais de mosca tigre nas estufas não interfere nas actividades dos insectos auxiliares que actualmente se utilizam nos programas de luta biológica, se bem, que no caso dos parasitóides, terá de se prestar maior atenção devido à possibilidade de interferência com as suas populações.

3. CRIAÇÃO DE *Coenosia attenuata* EM LABORATÓRIO

3.1. INTRODUÇÃO

Na criação deste predador pretendeu-se otimizar a postura e o desenvolvimento das larvas para que haja um maior número de indivíduos emergidos, num curto espaço de tempo, e garantir a sobrevivência dos adultos. Esta optimização tem como objectivo principal, quer a criação em laboratório, para uso em ensaios laboratoriais, quer para uma futura criação em massa para largadas em estufas. Mais concretamente, no que se refere, aos ensaios laboratoriais, esta criação forneceu indivíduos para os ensaios da tarefa PREY e BEHAV do projecto no âmbito do qual esta tese foi desenvolvida.

Outros aspectos importantes da criação prendem-se com a simplificação do método e com os custos inerentes à criação, que podem tornar inviável o método de produção de *C. attenuata*.

Apesar de estar disponível metodologia referente à criação de *C. attenuata* em laboratório, em pequena escala, persistem alguns problemas quanto à sua produção em massa.

Kühne *et al.*, (1994) descreveu um método de criação em três etapas para *C. attenuata*, *C. humilis* e *C. strigipes* usando esciarídeos (*Bradysia paupera* Tuomikoski) e o fungo *Fusarium* sp. Posteriormente, Moreschi e Colombo (1999) determinaram uma densidade óptima de esciarídeos de 4-5 larvas/ cm³ de substrato para a produção de *C. attenuata* e *C. strigipes*, a 25°C e 70% de humidade relativa. Na figura 7 é apresentado um esquema da metodologia de criação de *C. attenuata* utilizada por estes autores.

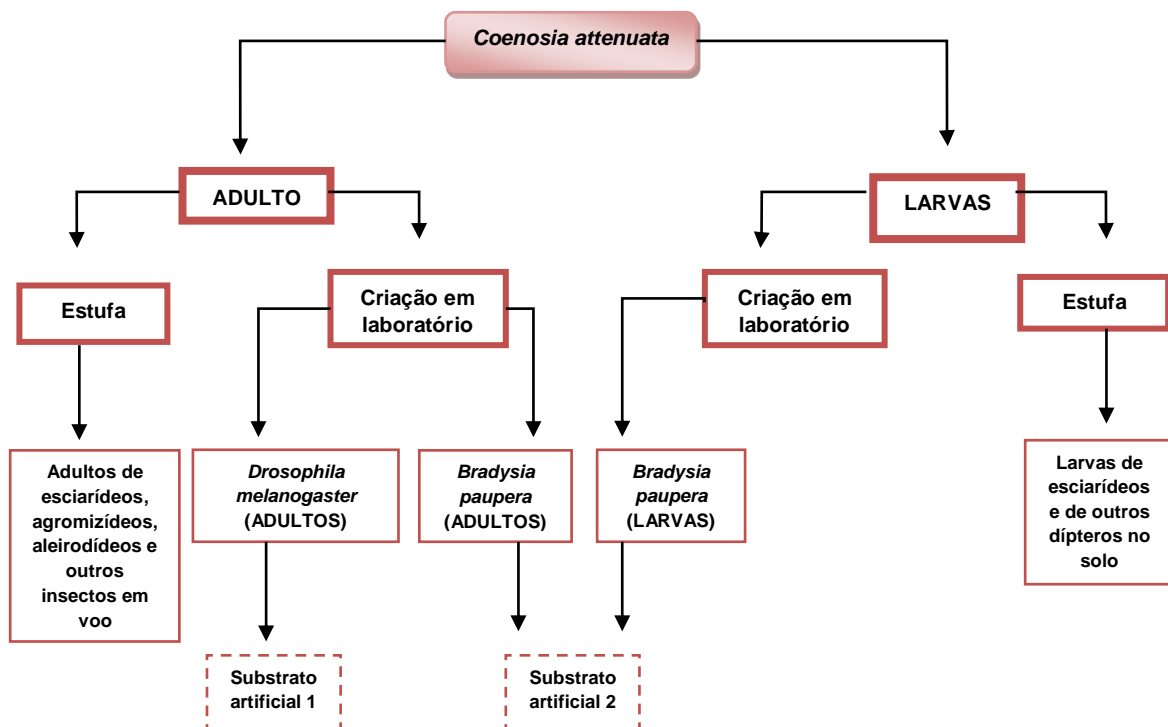


Figura 7 – Metodologia de criação de *Coenosia* spp. em criação artificial e em estufa (adaptado de Moreschi e Colombo, 1999).

Kühne (2000) publicou um segundo método de criação de *C. attenuata* usando como presa *Scatopse transversalis* Lowe (Diptera: Scatopsidae). Este método apresentou a vantagem de utilizar uma presa que não constitui geralmente uma praga, contudo revelou-se dispendioso em tempo e em termos económicos (Kühne, 2000). O fungo entomopatogénico *Entomophthora muscae* Cohn foi um problema significativo e persistente na produção.

Na criação de *C. attenuata* foram também usados anélideos como presas, embora com pouco sucesso. Moreschi e Süss (1998) criaram *C. attenuata* em porções de *Eisenia fetida* (Sav.) (Opisthopora: Lumbricidae) resultando numa mortalidade elevada das larvas (98%) e num desenvolvimento larvar muito demorado.

Apresenta-se de seguida, alguns pontos mais importantes a ter em conta na criação de *C. attenuata*:

- **Temperatura e humidade relativa da câmara de criação**, que influenciam a actividade predadora dos adultos e o desenvolvimento dos estados imaturos. É necessário escolher a temperatura ideal para conjugar as criações de presas (por exemplo, larvas de esciarídeos e adultos de drosófilas) e de *C. attenuata*, no menor tempo possível. É indicada a temperatura de 25°C como óptima para a criação de *C. attenuata* e de esciarídeos (Moreschi e Süss, 1998).
- **Alimento dos adultos** – As fêmeas têm de estar bem alimentadas para produzirem mais ovos e fazerem mais posturas. Kühne *et al.*, (1997a) constataram que fêmeas de *C. attenuata* colocavam mais ovos quando alimentadas por esciarídeos do que por drosófilas, o que foi também suportado por Sensenbach (2004), que comparou, drosófilas com moscas da praia (Ephydridae) e mosca branca.
- **Alimento das larvas** – Para a alimentação das larvas de *C. attenuata* a maioria dos trabalhos realizados usa na sua criação larvas de esciarídeos, como tal tem de se conjugar o ciclo de vida dos esciarídeos com o de *C. attenuata*. Para além de ser mencionada a necessidade de haver cerca de 4 a 5 larvas de esciarídeos por cm³ (Moreschi e Colombo, 1999), é necessário também que, no substrato, a maioria das larvas de esciarídeos existentes esteja entre o 2º e 4º instar (Ugine *et al.*, 2010; Sensenbach, 2004).

Numa criação deve-se ainda ter em conta outros factores, como a infestação do substrato por micro ou macrorganismos indesejáveis, que podem ser prejudiciais às larvas presentes no substrato e aos adultos que dele emergem.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

A criação de *C. attenuata* foi realizada no Edifício de Entomologia do INIA/ INRB em Oeiras. Para a obtenção de *C. attenuata* em laboratório foi necessário criar também presas, que neste trabalho foram esciarídeos (Diptera: Sciaridae) e drosófilas (Diptera: Drosophilidae). De seguida apresentam-se os métodos de criação correspondentes a cada uma das presas.

3.2.1. CRIAÇÃO DE ESCIARÍDEOS

Constituíram-se duas unidades de criação: uma com material potencialmente infestado (terra ou composto), incubado em laboratório para a obtenção de adultos que emergissem, e outra unidade, numa câmara de criação, para onde foram transferidos os adultos obtidos no laboratório, com o objectivo de os multiplicar e onde se optimizou o substrato de criação, adiante descrito.

Obtenção dos primeiros adultos

No início de Abril de 2010, foram colocadas, em laboratório, três gaiolas com 35x35x58 cm³ de tecido branco-transparente (“étamine”) sobre arestas de arame, que permitia a observação directa do seu interior.

Cada gaiola continha uma caixa de plástico sem tampa, 9x21x33 cm³ (6237 cm³), com terra ou composto, potencialmente infestados com esciarídeos. Passados cerca de 7 dias, emergiram esciarídeos numa das gaiolas com composto.

De Abril a Junho manteve-se esta criação em laboratório. O fotoperíodo foi o natural para aquele período do ano, uma vez que o laboratório era provido de janelas. A humedificação do ar foi obtida através de recipientes com água que se encontravam dispersos pelo laboratório e o aquecimento, quando a temperatura descia abaixo dos 20 °C, era feito com um aparelho de ar condicionado. Neste período, a temperatura média no laboratório rondou os 22°C e a humidade relativa média foi de 63%.

Multiplicação de esciarídeos

A câmara de criação onde ocorreu a multiplicação dos esciarídeos consistiu num compartimento, sem janelas, com 8,40 m x 3,30 m (aproximadamente 28 m²), equipado com um aparelho de ar condicionado e estantes metálicas com iluminação artificial realizada por lâmpadas fluorescentes TLD – 90 18 W / 950 (Figura 8).

A temperatura variou entre 23 e 26 °C, com recurso ao aparelho de ar condicionado, e a humidade relativa média foi de aproximadamente 65%, conseguida através de recipientes com água distribuídos pela câmara. O fotoperíodo foi de 12h D: 12h N, regulado por programadores acoplados aos sistemas de iluminação das várias estantes.



Figura 8 – Visão geral da câmara de criação (à esquerda) e estante com gaiolas de criação de esciarídeos (à direita) (originais da autora).

As gaiolas utilizadas foram iguais às usadas no laboratório para obtenção dos primeiros adultos de esciarídeos, acima descritas, com caixas de plástico também iguais, as quais continham o substrato alimentar e de postura dos esciarídeos, que será designado doravante por “substrato de criação”.

O substrato de criação, numa primeira fase, consistiu numa massa compacta de aveia (Figura 9) inoculada com o fungo *Pleurotus ostreatus* (Jacq:Fr.) Kummer, previamente incubada em laboratório (tarefa executada por um outro elemento da equipa do projecto), que foi desfeita e colocada na caixa.

Após a identificação à lupa, ao nível da família, dos adultos obtidos em laboratório, deu-se início à transferência dos esciarídeos para a câmara de criação. A quantidade de indivíduos colocada nas gaiolas da câmara de criação foi sendo faseada, dependendo da quantidade de indivíduos obtidos a partir do composto em laboratório. Foram introduzidos cerca de 200 a 300 adultos em cada gaiola, durante 15 dias.



Figura 9 – Massa compacta de aveia inoculada com fungo *Pleurotus ostreatus*: substrato de criação inicial para esciarídeos (original da autora).

Durante os 15 dias acima referidos, procedeu-se à rega do substrato, à introdução de esciarídeos provenientes do laboratório e ao registo diário da temperatura e humidade relativa na câmara de criação.

Passados esses 15 dias, retirou-se uma amostra da massa de aveia inoculada, para observação à lupa. Se este substrato fosse adequado à multiplicação de esciarídeos, nesta data já se deveria encontrar ovos ou larvas dos mesmos, o que não se verificou.

Procedeu-se à alteração do substrato, misturando terra com a aveia inoculada com o fungo já acima referido, na proporção de 3:1 (Figura 10). Para se evitar o desenvolvimento de outros fungos e de outros organismos indesejáveis à criação, a terra foi previamente esterilizada.

Este novo substrato é uma modificação do usado por Sensenbach (2004). O substrato foi colocado em gaiolas, onde se procedeu de novo à introdução faseada de esciarídeos provenientes das gaiolas em laboratório, tal como anteriormente descrito. Durante o período de multiplicação, o substrato foi sendo regado e levemente revolido, para se manter homogeneamente com uma humidade elevada e não compactar. Após 20 a 25 dias da primeira colocação dos adultos, obteve-se a primeira geração.



Figura 10 – Gaiola com caixas de substrato de criação de esciarídeos (terra misturada com aveia inoculada com *Pleurotus ostreatus*, numa porção 3:1) (originais da autora).

Após cerca de dois meses do início do trabalho experimental, considerou-se a técnica de criação de esciarídeos suficientemente afinada, a qual foi mantida até ao final do trabalho. A criação em laboratório foi terminada e a criação de esciarídeos foi mantida unicamente na câmara de criação.

Para se obter uma criação contínua, em cada série de novas gaiolas de criação de esciarídeos, foram introduzidos cerca de 300 adultos, em substrato novo, provenientes de gaiolas de criação antecedentes.

Manipulação de esciarídeos

Antes da transferência dos esciarídeos do laboratório para a câmara de criação, os adultos foram identificados, o que obrigou a adormecê-los/ imobilizá-los durante o tempo necessário a esse processo. Foram testados dois métodos:

- 1) Adormecimento no congelador, a -9 °C. Este método mostrou-se moroso, uma vez que se tinha de esperar mais de 10 minutos para conseguir adormecê-los o suficiente;
- 2) Adormecimento em câmara de morte, com éter, onde os insectos permaneceram apenas durante alguns segundos. Este método revelou-se mais rápido, pelo que foi o adoptado para este trabalho.

Depois de adormecidos, foram colocados em caixas de Petri e identificados à lupa até à família, com base na análise das asas, as quais apresentam um “U” na nervação posterior da asa (Malais e Ravensberg, 1992) (Figura 11). Durante a observação, os adultos permaneciam dentro das caixas fechadas, uma vez que alguns acordavam durante esse período. Os insectos identificados como sendo da família Sciaridae, eram transferidos, em caixas de Petri, para a câmara de criação (Figura 12).



Figura 11 – Asa de adulto da família Sciaridae (fonte: www.diptera.info).



Figura 12 – Caixas de Petri com adultos de esciarídeos para identificação à família (original da autora).

Para se obter a identificação específica, em Agosto de 2011, foram enviadas amostras de adultos ao Dr. Frank Menzel, do Deutsches Entomologisches Institut, Eberswalde, Alemanha. Os indivíduos foram identificados como sendo *Bradysia difformis* Frey 1948.

Na câmara de criação, a transferência dos adultos entre gaiolas foi realizada com um aspirador entomológico pequeno (Figura 13).



Figura 13 – Aspirador entomológico utilizado na transferência de indivíduos entre gaiolas (original da autora).

Quanto à manipulação das larvas dos esciarídeos, que são presas das larvas de mosca tigre, foi realizada indirectamente, por manipulação do substrato de criação onde estas se encontravam, como é adiante descrito.

3.2.2. CRIAÇÃO DE DROSÓFILAS

Para a multiplicação de indivíduos da espécie *D. melanogaster*, foram cedidas duas estirpes pela equipa do Doutor Pedro Domingos do ITQB.

A criação de drosófila foi efectuada na câmara de criação dos esciarídeos e, portanto, nas mesmas condições.

A multiplicação das drosófilas foi realizada em recipientes de vidro ou plástico, fechados com rolhas de poliuretano “mite-proof”, com 25 mm de altura (Figura 14), onde se colocou previamente o substrato alimentar e de postura (ou substrato de criação de drosófilas) (Anexo 4). Após 12 dias, aproximadamente, obtinham-se os primeiros adultos da geração seguinte.



Figura 14 – Recipientes de criação de drosófilas (original da autora).

3.2.3. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE METODOLOGIAS DE CRIAÇÃO DE *Coenosia attenuata*

C. attenuata foi criada na mesma câmara de criação utilizada na criação de esciarídeos, pelo que as condições de temperatura, humidade relativa e luminosidade eram as mesmas. Para dar início à criação, machos e fêmeas de *C. attenuata* foram capturados numa estufa de pepino da região Oeste (Figura 15) e, em seguida, introduzidos em gaiolas (iguais às dos esciarídeos), na câmara de criação.



Figura 15 – Estufa de pepino da região Oeste onde se recolheram os adultos de mosca tigre para início de criação em laboratório (originais da autora).

Manipulação de adultos

Os adultos de mosca tigre foram capturados no campo e transportados para o laboratório /câmara de criação, individualmente, em pequenas caixas cilíndricas de plástico semi-transparentes (caixas dos rolos das máquinas fotográficas analógicas) apresentada na Figura 16, em que as tampas eram providas de furos, para entrada de ar (metodologia de captura descrita em Pinho et al., 2009).



Figura 16 – Captura de mosca tigre na estufa de pepino da região Oeste (original da autora).

Na câmara de criação, a transferência dos adultos entre gaiolas foi feita através dum tubo cilíndrico transparente com uma tampa rotativa (acessório do aspirador atrás indicado) que permite que se feche o tubo facilmente após a entrada do indivíduo.

Alimentação das larvas

As larvas que se desenvolveram no substrato de esciarídeos serviram de presas para as larvas de *C. attenuata*.

O substrato com larvas de esciarídeos, para a criação de *C. attenuata*, era retirado das gaiolas de criação de esciarídeos, uma semana após o início da sua primeira geração (emergência dos primeiros indivíduos da primeira geração).

Após a colocação do substrato nas caixas de plástico para criação de *C. attenuata*, previamente taradas, estas eram pesadas e era retirada uma amostra de substrato para uma caixa de Petri, tarada, que era também pesada (Figura 17). A amostra de substrato era observada e o número de larvas de esciarídeos nessa amostra era registado e reportado no peso do substrato.



Figura 17 – Pesagem da amostra de substrato de criação para observação e contagem de larvas de esciarídeos (original da autora).

Alimentação dos adultos de *Coenosia attenuata* e obtenção de posturas

Optou-se por duas presas diferentes para adultos de *C. attenuata* (esciarídeos e drosófilas) para que não ocorresse competição entre adultos e larvas pela mesma criação. As drosófilas eram introduzidas directamente nas gaiolas de criação, por introdução total ou parcial dos recipientes usados para a sua criação, que aí eram destapados e os esciarídeos emergiam do substrato de criação comum à mosca tigre.

Dentro de cada gaiola foi colocada uma armação em ferro, a servir de “poleiro”, quer para os indivíduos de mosca tigre, quer para as suas presas, e uma caixa com substrato de criação (Figura 18). Este era o substrato de criação de esciarídeos e, portanto, infestado com ovos, larvas e pupas dos mesmos, mas colocado em caixas de plástico mais pequenas.

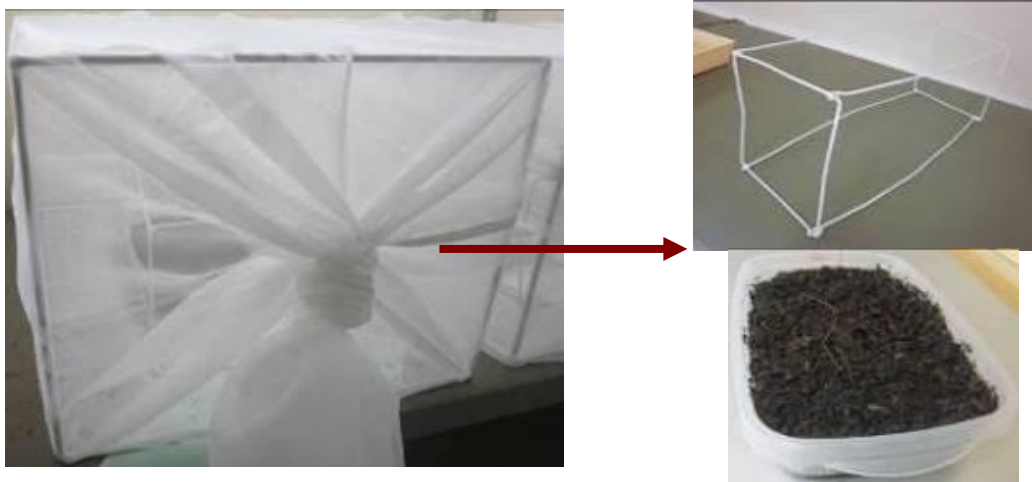


Figura 18 – Gaiola de criação de *Coenosia attenuata*, com “poleiro” em ferro e caixa de substrato para postura (original da autora).

Foram utilizados três tipos de caixas de plástico, com diferentes volumes, para conter o substrato de criação de *C. attenuata*: Tipo 1 – 788 cm³; Tipo 2 – 864 cm³; e Tipo 3 – 1225 cm³ (Figura 19). A caixa de Tipo 3, a de maior volume, foi usada com mais frequência; as caixas de Tipo 1 e Tipo 2 foram apenas usadas no início do trabalho. Inicialmente, não se enchiam totalmente as caixas com o substrato. Depois de se introduzir o substrato nas gaiolas, procedeu-se à introdução dos adultos de *C. attenuata*.



Figura 19 – Caixas de plástico com substrato de criação – Tipo 1, Tipo 2 e Tipo 3 respectivamente (originais da autora).

Foram criadas gaiolas com adultos provenientes do campo e outras com adultos provenientes já de gerações de laboratório.

Periodicamente realizaram-se capturas de adultos de mosca tigre em estufas da região Oeste para “refrescar” a criação.

No início, colocou-se apenas um macho e uma fêmea por gaiola. Para alimentar estes indivíduos, colocaram-se 5 a 10 drosófilas por adulto e por dia, em cada gaiola, o que correspondia a mais do que o consumo estimado por Kühne (2000) e por Sensenbach (2004).

Numa primeira fase, procedeu-se à humidificação do substrato com água através dum vaporizador manual e manteve-se o substrato permanentemente húmido até à emergência dos novos indivíduos. Face a resultados menos satisfatórios, a metodologia foi alterada, como seguidamente se apresenta, e foi mantida até ao final deste trabalho:

1. Aumentou-se o teor de matéria orgânica da terra que constituía o substrato de criação dos esciarídeos.
2. Aumentou-se o número de casais em cada gaiola, para 5 ou 10 casais (10 ou 20 indivíduos, no total), mantendo-se a proporção de alimento de 10 a 15 drosófilas para cada indivíduo e por dia;
3. Alterou-se o período de humidificação do substrato: passou a ser humedecido somente durante os 20 dias em que os casais de mosca tigre se mantinham na gaiola, período em que ocorriam as posturas; após este período, os substratos eram retirados para outras gaiolas, já sem adultos, para se manterem sob observação até ocorrerem as emergências (Figura 20). Durante o período de observação não se realizava a humidificação, tentando providenciar às pupas um substrato menos húmido.
4. Aumentou-se o volume de substrato nas caixas de postura.



Figura 20 – Gaiola de criação de *Coenosia attenuata* com caixa de substrato para observação de emergências (original da autora).

Após os 20 dias de posturas, os adultos que ainda estivessem vivos eram colocados em novas gaiolas, com novo substrato, para aí ficarem mais 20 dias a realizarem posturas.

Análise estatística

Para cada gaiola de criação registou-se o número de progenitores introduzidos (2, 10, 20), a duração do período de acasalamento, de postura e desenvolvimento - APD (duração, em dias, desde a colocação dos progenitores nas gaiolas e a emergência de novos adultos), período de emergências (número de dias decorridos entre as primeiras e últimas emergências), origem dos progenitores (campo ou laboratório), número de larvas de esciarídeos no substrato, temperaturas mínima, máxima e média na câmara de criação, número de moscas tigre emergidas, o número de fêmeas que sobreviveram no final dos 20 dias de postura e origem das fêmeas progenitoras, quando de laboratório distingue-se fêmeas virgens recém emergidas de fêmeas não virgens reutilizadas (proveniente de outras gaiolas de criação, tendo aproximadamente 20 dias).

Doravante, por progenitores de laboratório considera-se tanto as fêmeas recém emergidas como as reutilizadas.

Para a comparação das variáveis acima descritas foram realizadas análises de variância. Sempre que não se verificava a normalidade e/ou a homogeneidade da variância dos dados (Anexo 1, Quadros 1, 2, 6, 14), procedia-se à comparação de medianas através de análise de variância não paramétrica pelo teste de Kruskal-Wallis (Anexo 1, Quadros 15, 17, 27, 30). Para a comparação da razão sexual (proporção de fêmeas emergidas, no total de emergências) em função do número de progenitores e sua proveniência e da mortalidade das fêmeas em função da sua proveniência, procedeu-se ao estudo da normalidade (Anexo 1, Quadros 22 e 23), antes e após transformação angular ($\arcsen \sqrt{x}$) dos dados obtidos com e após retirada de valores *outliers*. Quando não se rejeitou a normalidade dos dados com 95% de confiança procedeu-se à análise de variância (Anexo 1, Quadro 24). Nos casos em que se verificaram diferenças significativas a 95% de confiança, procedeu-se à comparação múltipla de médias através do teste de Tukey ou do teste de Dunnett, caso não se verificasse a homogeneidade de variâncias (Anexo 1, Quadros 4, 16 e 26).

Estudou-se a correlação entre algumas variáveis, com recurso ao teste não paramétrico de Spearman, uma vez que as variáveis estudadas não apresentaram distribuição normal (Anexo 1, Quadros 10, 11, 18, 19, 20).

Foram, ainda, ajustadas rectas de regressão para as variáveis “número de larvas de esciarídeos”, “número total de emergências”, “temperaturas mínima, média e máxima” e “período de APD”. (Anexo 1, Quadro 8 e 10). A análise estatística dos resultados obtidos foi efectuada recorrendo aos programas estatísticos SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 17.0 e IBM SPSS versão 19.0.

3.2.4. OTIMIZAÇÃO DO SUBSTRATO DE CRIAÇÃO

Foram testados três tipos de substrato (Figura 21):

T – substrato constituído por terra;

M – substrato obtido através da mistura de terra com fibra de coco, na proporção de 1:1;

FCT – substrato de fibra de coco intercalada com terra, na mesma caixa de postura, em zonas diferenciadas: colocaram-se duas porções de fibra de coco junto a dois dos lados da caixa e a terra no meio, de forma que os três volumes fossem similares.



Figura 21 – Substratos Tipo FCT (fibra de coco intercalada com terra), T (terra rica em matéria orgânica) e M (mistura de terra e fibra de coco), respectivamente, para criação de mosca tigre (originais da autora).

Não houve uma alteração significativa em relação aos componentes do substrato, apenas se fez conjugações com os diferentes componentes: terra, aveia inoculada com fungo e fibra de coco.

Nos três tipos de substrato, tanto a terra como a fibra de coco continham aveia inoculada com o fungo *P. ostreatus* na proporção de 3:1 (terra ou fibra de coco: aveia). A terra e a fibra de coco foram previamente esterilizadas antes da introdução da aveia com o fungo. Após a introdução da aveia colocou-se separadamente, a terra e a fibra de coco em caixas de plástico, 21x33x9 cm³ (volume 6237 cm³), e de seguida cada caixa foi colocada numa gaiola, de 35x35x50 cm³ (largura x comprimento x altura), revestidas com tecido branco-transparente (“étamine”). Nestas gaiolas foi introduzido igual número de esciarídeos para que estes realizassem posturas e seguiu-se o mesmo procedimento da criação de esciarídeos, descrito no capítulo 3.2.1.

Uma semana após a emergência dos primeiros esciarídeos, procedia-se à mistura da fibra de coco com a terra para o substrato M e realizava-se a introdução dos diferentes tipos de substrato em caixas de plástico (com 1225 cm³ de volume).

É de salientar que a fibra de coco se encontrava desfeita em pequenos pedaços e farripas quer no substrato M como no FCT.

Os três tipos de substrato eram colocados separadamente em diferentes gaiolas, iguais às acima descritas, e em cada uma colocavam-se 5 machos e 5 fêmeas de *C. attenuata* obtidos na criação de laboratório.

Considerou-se que o conjunto dos três tipos de substrato (FCT, T e M), colocado cada um na sua gaiola, faria um bloco. Realizaram-se 12 blocos, em que existiu um desfaseamento temporal entre eles. Nos blocos a disposição dos substratos foi casualizada.

Os substratos foram regados regularmente com um vaporizador, para que o substrato permanecesse com um teor elevado de humidade. No substrato FCT, apenas era regada a porção de terra, para que a fibra de coco se mantivesse mais seca.

Após 20 dias da introdução dos substratos e dos adultos de *C. attenuata*, deixava-se de regar e os substratos eram colocados em novas gaiolas, separadamente, para observação de emergências.

Para cada substrato contou-se o número de indivíduos que emergiram e após uma semana sem emergências retirava-se o substrato e dava-se como concluído o ensaio.

As gaiolas do ensaio encontravam-se na mesma câmara de criação de *C. attenuata* e de esciarídeos referida anteriormente. As temperaturas na câmara variaram entre os 21 - 26 °C, sendo o aquecimento realizado por um aparelho de ar condicionado. A humedificação era feita através de recipientes com água espalhados pela câmara; registou-se uma humidade relativa média de aproximadamente 60%. O fotoperíodo era de 12h D: 12h N.

Análise estatística

Para cada gaiola de cada bloco, registou-se o tipo de substrato (M, T, FCT), a duração do período de acasalamento, postura e desenvolvimento (duração, em dias, desde a colocação dos casais nas gaiolas e a emergência dos adultos), período de emergências (número de dias decorridos entre as primeiras e últimas emergências), número de larvas de esciarídeos no substrato, temperaturas mínima, máxima e média na câmara de criação e o número de emergidos por substrato.

Para a comparação das variáveis acima descritas, foram realizadas análises de variância a um factor em blocos casualizados. Em todos os casos foram verificados os pressupostos para a realização desta análise estatística (Anexo 2).

Na comparação do número total de emergidos em cada substrato realizou-se uma transformação logarítmica a esta variável, sendo a normalidade dos dados aceite com 95% de confiança.

Ao realizar-se a análise estatística para a comparação da razão sexual (proporção de fêmeas emergidas, no total de emergências) dos diferentes substratos, verificou-se que existiam valores que poderiam estar a influenciar a normalidade, assim ao retirarem-se os valores dos blocos 4 substrato FCT, 5 substrato T, 6 substrato M e 8 substrato M, com valores de razão sexual de 0,63; 0,65; 0,67 e 0,68 respectivamente, conseguiu-se aceitar a normalidade dos dados com 95% de confiança (Anexo 2, Quadros 7, 8 e 9).

Nos casos em que foram necessárias comparações par a par, com vista à detecção de pares em que ocorrem diferenças significativas, recorreu-se ao teste de comparações múltiplas de Tukey.

A análise estatística dos resultados obtidos foi efectuada recorrendo ao programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 17.0 e IBM SPSS versão 19.0.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE METODOLOGIAS DE CRIAÇÃO DE *Coenosia attenuata*

Efeito do número de progenitores e sua origem

Das 86 gaiolas analisadas, ocorreram emergências de indivíduos de *C. attenuata* de nova geração em 59 gaiolas, representando um sucesso de 68%. As restantes 27 foram gaiolas com apenas um casal (2 progenitores). Destas, a maioria das gaiolas (70%) o casal era proveniente da criação de laboratório (Quadro 2).

Quadro 2 – Número de gaiolas com um casal onde não ocorreram emergências de *Coenosia attenuata*.

<i>Origem dos progenitores</i>	<i>Nº gaiolas</i>	<i>%</i>
Campo	8	29,6
Laboratório	19	70,4

A taxa de insucesso para as gaiolas com um casal proveniente de laboratório pode dever-se a um insucesso no acasalamento, uma vez, que as fêmeas de laboratório podem não acasalar com o único macho presente na gaiola. As fêmeas de campo, por outro lado,

podem vir do campo já fertilizadas, resultando num maior número de gaiolas com emergências.

Nos Quadros 3 e 4, apresentam-se as taxas de sucesso e insucesso para as gaiolas com um casal de laboratório e de campo, respectivamente.

Quadro 3 – Número de gaiolas com um casal com origem na criação de laboratório com e sem ocorrência de emergências de *Coenosia attenuata*.

<i>Gaiolas com um casal de laboratório</i>	<i>Nº gaiolas</i>	<i>%</i>
Com emergências	2	9,5
Sem emergências	19	90,5

Quadro 4 – Número de gaiolas com um casal com origem no campo com e sem ocorrência de emergências de *Coenosia attenuata*.

<i>Gaiolas com um casal de campo</i>	<i>Nº gaiolas</i>	<i>%</i>
Com emergências	9	52,9
Sem emergências	8	47,1

Na comparação do número total de emergências tendo em conta a origem dos progenitores (campo ou laboratório) e número de progenitores (2, 10 e 20), verificou-se que não existem diferenças significativas quanto à origem dos progenitores ($F=1,195$; g.l.=1; $p=0,279$), no número de emergências por casal, pelo que se pode considerar, com 95% de confiança, que não existe uma influência significativa da origem dos progenitores no número total de emergidos. O mesmo sucede com o número de casais introduzidos e com a interacção entre dois factores.

Com o aumento do número de casais colocados nas gaiolas, aumentou também, em média, o número total de indivíduos emergidos (Figura 22), como seria de esperar. Dos substratos com 10 casais resultaram, em média, 42 adultos de *C. attenuata*, enquanto que substratos com um e cinco casais deram origem, em média, a 5 e 23 adultos, respectivamente. Assim, em média, o número de adultos obtidos por casal de progenitores decresceu de um para 10 casais colocados nas gaiolas (respectivamente, 5,4, 4,7 e 4,2 adultos/casal progenitores). Contudo, e considerando apenas este factor não se detectaram diferenças significativas ($F=1,874$; gl= 2, 54; $p=0,163$)

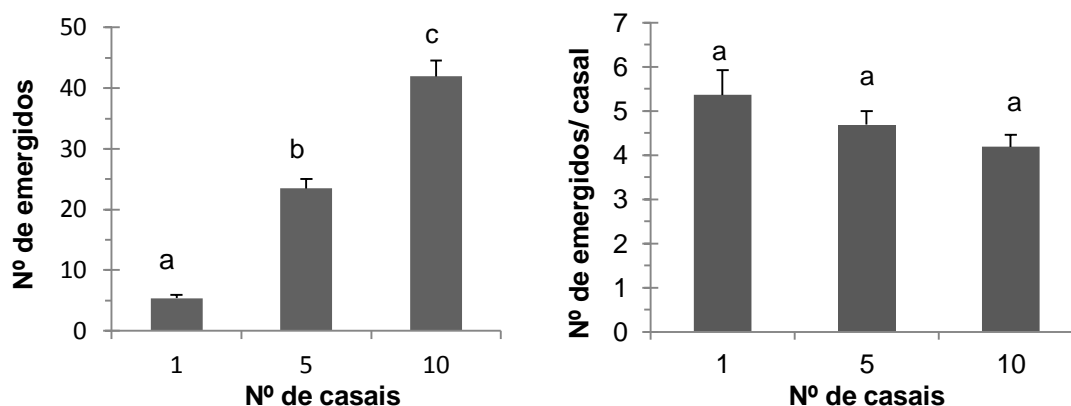


Figura 22 – Número médio de indivíduos de *Coenosia attenuata* emergidos (e respectivos erros padrão da média) em função do número de casais progenitores (médias apresentando letras diferentes diferem significativamente para um nível de significância de 5%).

Não se verificaram diferenças entre o total de emergências, por fêmea, provenientes de casais de laboratório em que as fêmeas eram, previamente à colocação nas gaiolas, virgens recém-emergidas ou não virgens, reutilizadas (já utilizadas em outras gaiolas de criação) ($F=0,328$; g.l.=1; $p=0,571$). Este resultado pode indicar que as fêmeas de laboratório reutilizadas podem ter copulado novamente.

Kühne *et al.*, (1997b) referiram a existência em *C. attenuata* de um período de pré-postura, de cerca de quatro dias e que 92% dos ovos eram postos durante um período de três semanas, a 25°C. Assim, o maior número de emergências observado para gaiolas de fêmeas reutilizadas (com aproximadamente 20 dias), poderá também ser explicado pelo facto das fêmeas nestas gaiolas colocarem mais ovos.

Efeito das larvas de esciarídeos no substrato

A relação entre o número de larvas de esciarídeos existente no substrato e o número total de indivíduos de *C. attenuata* emergidos encontra-se representada na Figura 23. Pode-se considerar que há um bom ajustamento ($R^2 = 0.66$; $F=103,356$; $p=5,86 \times 10^{-14}$), sendo que aproximadamente 60% da variação do número total de emergências é determinada pelo número de larvas de esciarídeos presentes nos substratos.

A correlação entre o número de larvas de esciarídeos no substrato e o número total de emergências de *C. attenuata*, é muito significativa, alta e positiva (Coef. determinação=0,786; $p=7,055 \times 10^{-13}$), indicando que há uma variação no mesmo sentido entre estas duas variáveis: um aumento do número de larvas de esciarídeos no substrato corresponde a um aumento no número total de emergências.

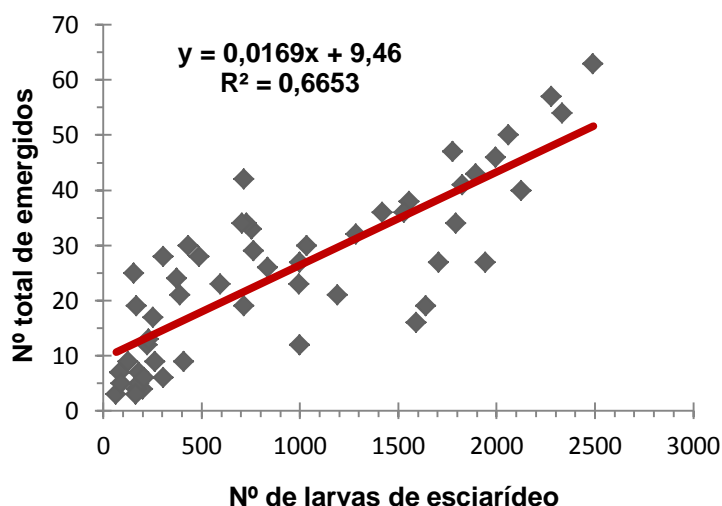


Figura 23 – Regressão linear entre o número de larvas de esciarídeos existente no substrato e o número total de indivíduos de *Coenosia attenuata* emergidos.

Tendo em conta a recta de regressão obtida (Figura 23) e extrapolando para $x=0$, isto é considerando não existir larvas de esciarídeos no substrato, obtém-se um valor de número de emergidos próximo de 10, o que levanta a hipótese, que seria interessante testar no futuro, de as larvas de mosca tigre praticarem canibalismo, como é referido por alguns autores (ver 2.3) ou se alimentarem recorrendo a outras fontes de alimento, como o próprio fungo do substrato.

A intensidade da correlação entre o número de larvas de esciarídeos e a duração do período de emergências apresenta-se significativa, moderada e positiva (Coef. Determinação (R)= 0,403; $p=0,002$; $N=56$), sendo que com o aumento ou diminuição do número de larvas de esciarídeos no substrato se obtém um aumento ou diminuição do período de emergências, respectivamente. No entanto, a variável número de larvas de esciarídeos explica uma pequena parte da variação da duração do período de emergência pois não há um bom ajustamento do modelo aos dados ($R = 0,403$). Esta questão deverá ser futuramente explorada, tendo em conta a proporção de cada instar larvar da presa.

Assim, o número de larvas de esciarídeos foi importante na criação de *C. attenuata*. Um substrato rico em larvas de esciarídeos, proporcionou um maior número de emergências pela presença de mais alimento e fez com que as emergências se prolongassem por mais tempo o que se explica através do desfasamento dos instares larvares, que permite que as larvas de *C. attenuata* tenham alimento à disposição por mais tempo.

Moreschi e Colombo (1999) consideram necessário haver cerca de 4 a 5 larvas de esciarídeos por cm^3 para que haja um bom desenvolvimento das larvas de *C. attenuata*. No volume de substrato usado nesta criação de *C. attenuata*, deveriam existir cerca de 6000 larvas de esciarídeos, para se obter um bom desenvolvimento das mesmas, como indicam

os autores. No entanto, a determinação do número de larvas de esciarídeos existente no substrato na altura em que existem larvas de *C. attenuata* é uma tarefa bastante difícil. Contudo, é possível afirmar que, substratos com cerca de 2500 larvas, aquando da colocação na gaiola com os casais, proporcionaram o maior número de emergências.

Duração do período de acasalamento, de postura e desenvolvimento (Período APD)

Em relação à duração do período de postura, acasalamento e desenvolvimento de *C. attenuata*, verificaram-se diferenças significativas ($\chi^2=38,48$; g.l.=2; $p=4,41 \times 10^{-9}$) em função do número de casais de progenitores, sendo que a ocorrência de emergências em gaiolas com dez casais demorou, em média, mais tempo do que em gaiolas com um ou cinco casais (Figura 24) (Anexo 1, Quadro 16). Nas gaiolas com um casal, ocorreram, em média, emergências passados 28 dias, enquanto para gaiolas com cinco e dez casais, o número de dias aumentou (31 e 40 dias, respectivamente).

Com o aumento do número de casais nas gaiolas, aumentou também a heterogeneidade de posturas e a competição pelo alimento no substrato, o que poderá explicar, uma maior duração do desenvolvimento do período APD, nas gaiolas com mais casais. Contudo, o factor temperatura tem que ser tido em conta, já que não foi igual para todas as gaiolas: as gaiolas com apenas um casal não foram concomitantes com as gaiolas com cinco e dez casais, e “ocorreram” numa altura em que as temperaturas médias foram mais elevadas. É, pois, uma questão a explorar futuramente.

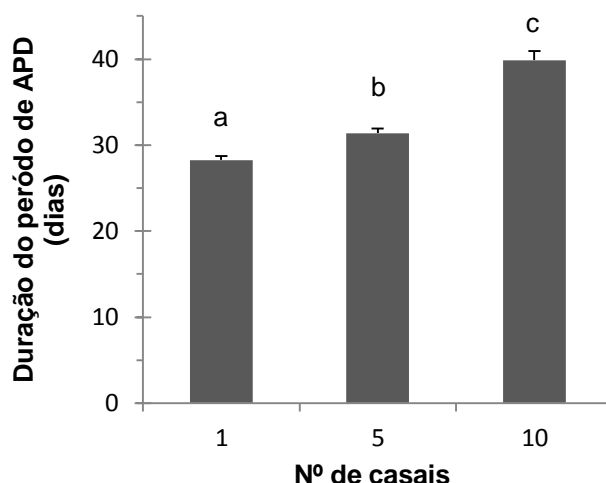


Figura 24 – Duração média do período de acasalamento, postura e desenvolvimento (e respectivos erros padrão da média), em dias, para a descendência obtida com diferente nº de casais (1, 5 e 10), por gaiola de criação; médias com letras diferentes correspondem a medianas que diferem significativamente entre si, para um nível de significância de 5%.

Na comparação da duração do período APD em função da origem dos progenitores, registaram-se diferenças significativas entre progenitores de campo e de laboratório ($F=10,43$; g.l.=1; $p=0,02$). Os progenitores de laboratório apresentaram um período de APD maior com uma média de $34,16 \pm 0,94$ dias em comparação com os $32,35 \pm 1,08$ dias para progenitores de campo. Este resultado pode estar relacionado com o facto de as fêmeas de laboratório, recém-emergidas, terem de realizar primeiro o acasalamento e, posteriormente, dar início à postura. O tempo que decorre entre o acasalamento e a postura, nas fêmeas de laboratório poderá ser maior que nas fêmeas de campo, uma vez que estas já poderão ter acasalado e estar aptas para realizar posturas assim que são colocadas nas gaiolas.

O número de gaiolas de fêmeas recém-emergidas (22 gaiolas) foi maior que o de fêmeas reutilizadas (9 gaiolas). Assim, o efeito das gaiolas de fêmeas reutilizadas, na origem de progenitores de laboratório poderá não ter sido representativo para influenciar a análise anterior.

Kühne (2000) indica que desde a postura dos ovos à emergência dos adultos, decorre um período de 40 a 43 dias a uma temperatura de 20°C, mas a 25°C esse período é inferior, de 26 a 27 dias. Pode-se considerar que os resultados obtidos para a duração do período de acasalamento, de postura e desenvolvimento (APD) se aproximam dos valores indicados por Kühne (2000), tendo em conta que há uma variação de temperaturas entre gaiolas e o período de APD inclui o período de acasalamento e não se inicia com a postura dos ovos de *C. attenuata*.

Quanto à relação entre o período de APD e as temperaturas mínima, máxima e média, todas as correlações apresentaram o mesmo resultado: significativas, altas e negativas: um aumento da temperatura mínima, máxima ou média reflectiu-se numa diminuição da duração do período de acasalamento, de postura e desenvolvimento.

Quanto às análises de regressão linear realizadas, as temperaturas média e mínima explicam melhor a relação com a duração do período de APD uma vez que apresentam um coeficiente de determinação maior, sendo $R^2 = 0,79$ ($F=91,253$; $p=2,801 \times 10^{-13}$), ($F=93,965$; $p=1,681 \times 10^{-13}$) para as temperaturas média e mínima, respectivamente; a temperatura máxima apresenta um $R^2 = 0,74$ e a análise não foi significativa. Na Figura 25, apresenta-se o gráfico com a regressão linear entre a temperatura média e a duração do período de APD.

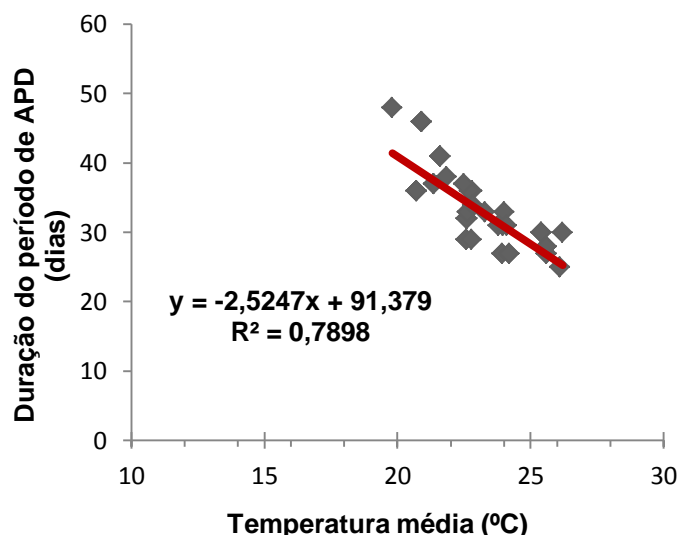


Figura 25 – Regressão linear entre a temperatura média (°C) e a duração do período de APD.

Razão sexual

A comparação da razão sexual (aqui avaliada através da proporção de fêmeas emergidas em relação ao total de emergências) obtida com um diferente número de progenitores e diferente origem, revelou não existirem diferenças significativas quer para o número de progenitores ($F=2,46$; $gl=2$; $p=0,096$), quer para a sua proveniência ($F=0,04$; $gl=1$; $p=0,842$).

Duração do período de emergências

As análises de correlação entre a duração média do período em que ocorreram emergências e as temperaturas mínima, máxima e média, não se revelaram significativos (para $p \leq 0,05$). Do mesmo modo, a análise através de regressão linear apresentou valores de coeficientes de regressão muito baixos.

Na comparação do período de emergências com a origem (campo ou laboratório) e número de progenitores (2, 10 e 20), verificou-se não existirem diferenças significativas quanto à origem dos progenitores ($F=0,88$; $gl=1$; $p=0,35$); assim, pode-se considerar, com 95% de confiança, que não existe uma influência significativa dos progenitores de campo ou de laboratório na duração do período de emergências.

Quanto ao número de progenitores, obteve-se diferenças significativas para a duração do período de emergências ($F=9,34$; $gl=2$; $p=3,50 \times 10^{-4}$). Com o aumento de casais nas gaiolas, aumentou também, em média, a duração desse período (Figura 26). E, verificou-se interação significativa entre o número de progenitores e a sua proveniência ($F=4,37$; $gl=2$; $p=0,02$) em relação ao período de emergências.

Com o aumento de casais nas gaiolas, aumentou também a heterogeneidade das posturas, havendo fêmeas que ao colocarem ovos mais tarde fizeram aumentar o período de

emergências, o que poderá explicar os resultados, embora sem diferenças significativas para cinco ou dez casais nas gaiolas.

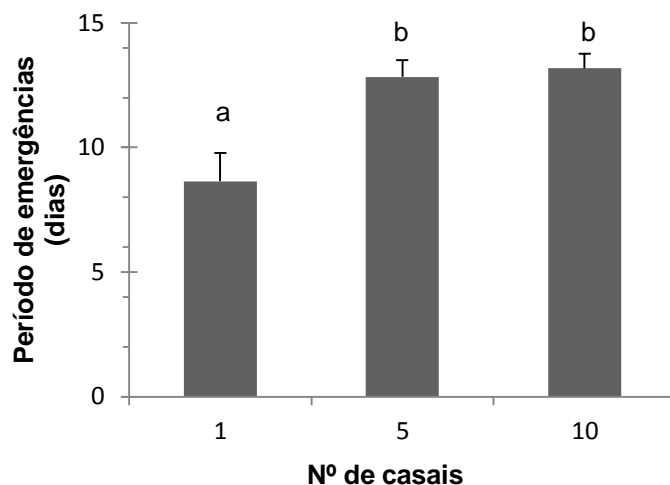


Figura 26 – Duração média do período de emergências (e respectivos erros padrão da média), em dias, com diferente número de casais (1, 5 e 10), por gaiola de criação; letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5%.

Mortalidade das fêmeas de laboratório

A comparação da mortalidade das fêmeas consoante a sua utilização de laboratório (recém emergidas ou reutilizadas) apresentou diferenças significativas ($\chi^2=6,72$; gl=1; $p=0,01$).

As gaiolas com fêmeas reutilizadas apresentaram, em média, um maior número de emergências relativamente a gaiolas com fêmeas (virgens) recém-emergidas. No entanto, foram as gaiolas com fêmeas reutilizadas que apresentaram uma maior taxa de mortalidade de fêmeas.

Resultados observados ao longo da criação

Após a análise dos resultados, considera-se importante discutir, algumas opções tomadas e observações que foram registadas ao longo do aperfeiçoamento da técnica de criação.

A observação das emergências das primeiras gerações resultantes de adultos de *C. attenuata* capturados no campo e das duas primeiras gerações de laboratório revelou que, em algumas gaiolas, não ocorriam emergências, e, naquelas em que ocorriam, o número de descendentes era baixo, o que levou a que se realizassem as alterações anteriormente mencionadas (ver Cap. 3.2.3) e que a seguir se esclarecem.

No início da criação, colocou-se apenas um macho e uma fêmea por gaiola, com o intuito de se reduzir a probabilidade de canibalismo entre os indivíduos. Após ter-se verificado que tanto com cinco ou dez casais, não se observava canibalismo, desde que houvesse presas alternativas em abundância, optou-se por aumentar o número de casais para esses valores.

No sentido de aumentar o número de emergências, decidiu-se realizar algumas modificações, como: aumentar o teor de matéria orgânica da terra que fazia parte do substrato de criação dos esciarídeos, para que estes tivessem mais alimento, e para se obter um substrato em que a humidade se mantivesse por mais tempo.

A utilização de três tipos de caixas na criação, teve que a ver com o aumento do número de indivíduos por gaiola. Visto que, o número de posturas iria aumentar com o aumento de fêmeas nas gaiolas considerou-se necessário aumentar também o volume das caixas. Assim, no início do trabalho usaram-se dois tipos de caixas com menor volume e posteriormente com a introdução de dez casais nas gaiolas, considerou-se necessário aumentar ainda mais o volume. Utilizou-se o tipo de caixa 3 (com maior volume) em todas as gaiolas analisadas estatisticamente, para que o “tipo de caixa” não fosse considerado como variável.

Após observação de alguns substratos, considerou-se que a humidade com que se encontravam seria demasiado elevada para que as larvas pudessem pupar e as pupas se desenvolverem, assim, optou-se por humidificar o substrato por um período de 20 dias e deixa-lo em observação (sem humidificação) após esse período para que as pupas existentes no substrato se pudessem desenvolver melhor. Durante os 20 dias, o substrato foi humidificado regularmente de forma a que se mantivesse à capacidade de campo, isto é, apresentando-se húmido ao toque, mas sem estar encharcado em água.

3.3.2. OPTIMIZAÇÃO DO SUBSTRATO DE CRIAÇÃO

A ideia de se intercalar fibra de coco e terra na mesma caixa, surgiu depois de se verificar que substratos com baixo número de adultos emergidos de *C. attenuata* apresentavam um teor de humidade muito elevado, que poderia prejudicar as pupas, uma vez que estas neste estado não precisam de tanta humidade. Assim, a fibra de coco seria a zona ideal para as larvas puparem.

Larvas de esciarídeos no substrato

Na comparação do número de larvas de esciarídeos existente nos três substratos, identificaram-se diferenças significativas ($F=13,084$; g.l.=2; $p=1,804 \times 10^{-4}$), mais precisamente entre o substrato FCT e os substratos M e T, sendo o substrato T o que apresenta, em média, um maior número de larvas de esciarídeos (Figura 27).

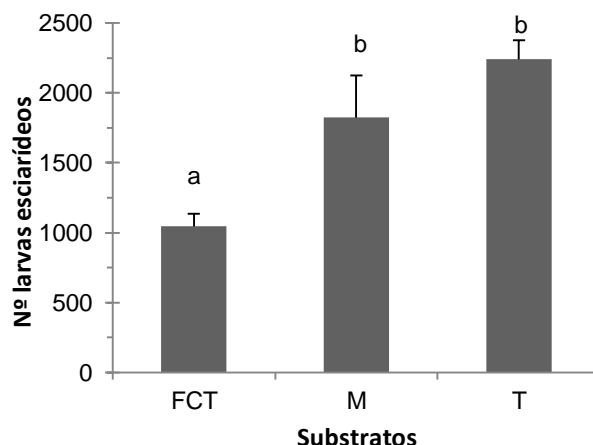


Figura 27 – Número médio de larvas de escariídeos existente nos diferentes substratos (e respectivos erros padrão da média); letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5% (FCT=Fibra de coco intercalada com terra; M=Mistura de terra e fibra de coco; T=Terra).

Chama-se a atenção que a análise dos parâmetros de *C. attenuata* apresentados em seguida (número total de indivíduos emergidos, duração do período de APD e duração do período de emergências), relativamente ao tipo de substrato terá que ter em conta o diferente número de larvas de escariídeos existente em cada tipo de substrato (tal como constatado acima), ou seja, a diferente quantidade de alimento que as larvas de *C. attenuata* têm à sua disposição.

No entanto, é de salientar que embora houvesse diferenças entre os três substratos, todos eles apresentavam um elevado número de larvas de escariídeos, suficiente para a ocorrência de emergências.

Número de indivíduos emergidos

Ao comparar-se o número total de indivíduos emergidos de *C. attenuata* nos três tipos de substratos, verificou-se haver diferenças significativas entre eles ($F=13,950$; g.l.=2; $p=1,22 \times 10^{-4}$). Registaram-se diferenças significativas entre o substrato M e os substratos FCT e T, sendo que o substrato M apresentou, em média, um maior número de indivíduos emergidos (Figura 28).

No substrato M (mistura de terra com fibra de coco), conseguiu-se observar pupas de *C. attenuata* alojadas nalgumas partes da fibra de coco, que embora esta estivesse desfeita em pequenos pedaços e farripas, acabava sempre por ter porções, que se encontravam mais secas, onde as pupas se alojavam, o que poderá explicar o maior número de emergências neste substrato.

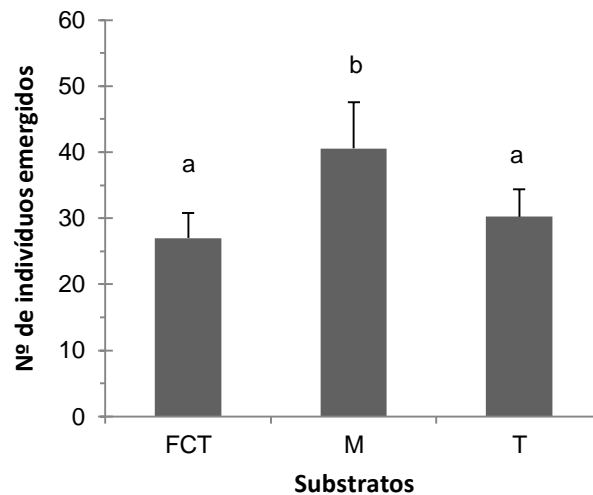


Figura 28 – Número médio de indivíduos emergidos nos diferentes substratos (e respectivos erros padrão da média); letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5% (FCT=Fibra de coco intercalada com terra; M=Mistura de terra e fibra de coco; T=Terra).

Razão sexual

Detectaram-se diferenças significativas na razão sexual correspondente aos três tipos de substrato ($F=3,918$; g.l.=2; $p=0,038$). Os substratos M e FCT apresentaram diferenças significativas entre si, tendo o substrato M um valor maior de razão sexual, ou seja, foi nele que houve mais emergências de fêmeas relativamente a machos (Figura 29).

A comparação da razão sexual entre blocos não apresentou diferenças significativas ($F=0,938$; g.l.=11; $p=0,522$), o que pode indicar que não é a diferença que existe entre blocos (como temperatura e humidade, por exemplo) que influencia as diferenças de razão sexual entre os substratos.

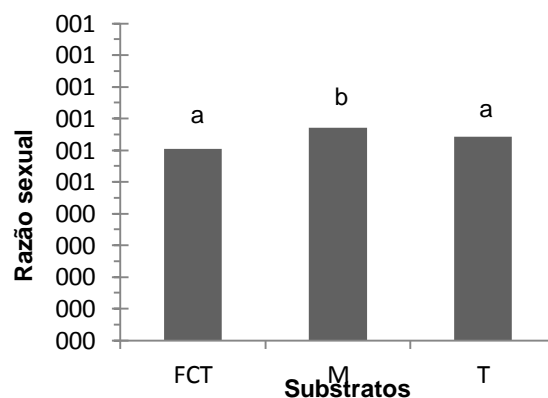


Figura 29 – Razão sexual média obtida nos diferentes substratos (e respectivos erros padrão da média); letras diferentes correspondem a médias que diferem significativamente entre si para um nível de significância de 5% (FCT=Fibra de coco intercalada com terra; M=Mistura de terra e fibra de coco; T=Terra).

Duração do período de emergências

Quanto à duração do período de emergências (número de dias decorridos entre a primeira e última emergências), observou-se não existirem diferenças significativas entre os três substratos ($F=0,205$; g.l.=2; $p=0,816$).

Através desta análise, pode-se considerar que as condições de cada bloco são semelhantes e não interferem com a duração do período de emergências, uma vez que não existem diferenças significativas entre substratos do mesmo bloco.

Duração do período de acasalamento, postura e desenvolvimento (período de APD)

A análise estatística à duração do período de APD revela que existem diferenças significativas ($F=447,114$; g.l.=11; $p=3,33 \times 10^{-23}$) em relação aos blocos, mas não evidencia diferenças entre substratos ($F=1,000$; g.l.=2; $p=0,384$).

Verificou-se, pelos resultados da criação em gaiolas, que a relação entre a duração do período de APD e a temperatura é significativa e negativa, ou seja, um aumento da temperatura mínima, máxima ou média reflecte-se numa diminuição da duração do período de APD. Assim, a diferença entre blocos seria esperada uma vez que cada ensaio foi realizado em alturas diferentes, a temperaturas também diferentes.

4. AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREDACÃO SOBRE *Diglyphus isaea*

4.1. INTRODUÇÃO

A actividade predadora tão agressiva observada em *C. attenuata*, leva a sugerir a possibilidade de, na ausência de pragas como presas, esta possa atacar organismos benéficos, como por exemplo, os agentes de luta biológica contra pragas (Téllez e Tapia, 2006).

De facto, alguns autores, para além de mencionarem a polifagia deste predador, referem também o ataque a auxiliares (Téllez e Tapia, 2006; Prieto, 2002).

O conhecimento sobre a quantidade de indivíduos consumidos por *C. attenuata*, consoante o tipo de presa, ainda é muito escasso. Téllez *et al.*, (2009) estudaram a resposta funcional de *C. attenuata* para três pragas diferentes: *Bradysia* sp., *Liriomyza trifolii* e *Bemisia tabaci* Gennadius. A acção predadora de *C. attenuata* sobre alguns auxiliares foi explorada por Téllez e Tapia (2006) que indicam que, de todos os insectos testados, os parasitóides resultam numa presa mais fácil em comparação com os predadores que se defendem melhor dos ataques.

Assim, visto *C. attenuata* assumir um papel relevante como auxiliar no combate a diversas pragas de culturas protegidas, é da maior importância avaliar a sua actividade de predação sobre pragas e auxiliares, pelo que neste trabalho se avalia a actividade de predação sobre um auxiliar importante em culturas protegidas em Portugal, *Diglyphus isaea* (Walker) parasitóide de diversas espécies de larvas mineiras.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de predação, assim como, a manutenção de moscas tigre para os ensaios foram realizados no Insectário do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Foi utilizada como presa a espécie *Diglyphus isaea* por ser a que se encontrava disponível comercialmente.

4.2.1. Individualização de pupas de *C. attenuata*

Para avaliar a taxa de predação nas diferentes modalidades estudadas, foi necessário separar do substrato de criação pupas de *C. attenuata* e individualizá-las em caixas pequenas de plástico transparente.

As pupas individualizadas foram colocadas numa câmara climatizada, com uma temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, $80 \pm 5\%$ HR e fotoperíodo 14 h D: 10 h N (Figura 30), até à emergência.

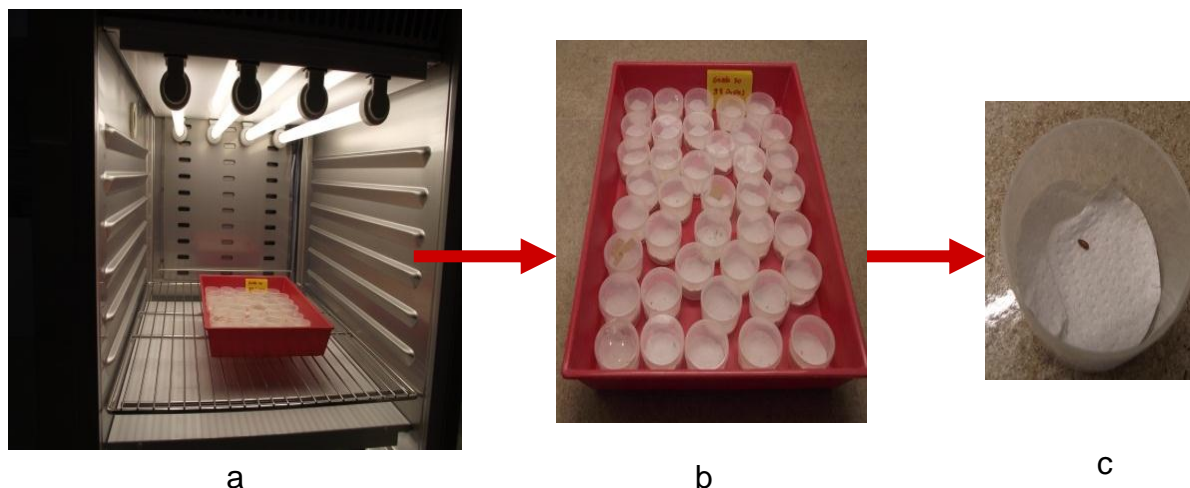


Figura 30 – Câmara climatizada (a) e caixas com as pupas de *C. attenuata* individualizadas (b e c) (originais da autora).

4.2.2. Ensaio de predação com *Diglyphus isaea*

Após a emergência dos adultos, estes foram colocados em gaiolas acrílicas de 30x30x40 cm³.

Dentro de cada gaiola foi colocada uma caixa de plástico com um volume de 864 cm³, parcialmente cheia com substrato de criação. Colocou-se, também, um arame de cor branca, com 56 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro para servir de poleiro (Figura 31).

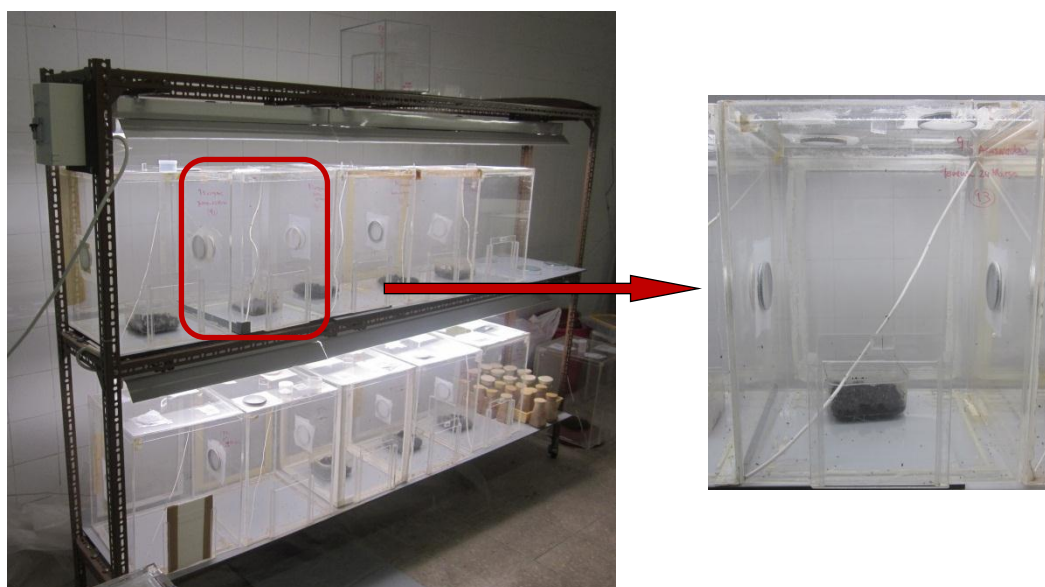


Figura 31 – Gaiolas acrílicas de colocação dos adultos de mosca tigre após a emergência (originais da autora).

A caixa com substrato de criação foi introduzida nas gaiolas de fêmeas virgens e fêmeas acasaladas. Nas gaiolas de machos virgens não se colocou substrato. O número de machos

e fêmeas introduzidas nas gaiolas para acasalamento esteve dependente do número de adultos recentemente emergidos de que se dispunha.

Nos ensaios de predação foram testadas cinco modalidades diferentes:

1. Fêmea acasalada jovem – com 48 horas pós emergência
2. Fêmea acasalada velha – com 12 dias de idade [pós-postura]
3. Fêmea virgem jovem – com 48 horas pós emergência
4. Fêmea virgem velha – com 12 dias de idade
5. Macho virgem jovem - com 48 horas pós emergência

A metodologia usada para cada modalidade foi a seguinte (Figura 32):

1. Fêmeas e machos emergidos no mesmo dia foram colocados juntos durante 36 horas, para que pudesse ocorrer acasalamento. Foi introduzido, na gaiola, substrato para postura e alimento para os adultos. Machos e algumas das fêmeas jovens foram retirados para o ensaio, 36 horas pós emergência, ficando apenas as fêmeas 12h à fome e os machos foram introduzidos em gaiolas de criação (fêmeas para modalidade 1),
2. As restantes fêmeas que permaneceram na gaiola onde se encontravam as fêmeas usadas na modalidade 1 foram alimentadas até completarem 12 dias de idade, considerando-se “pós início de postura”. Deixaram-se à fome durante 12 horas antes da sua utilização nos ensaios de predação (fêmeas para modalidade 2),
3. Fêmeas virgens que emergiram no mesmo dia foram colocadas juntas durante 36 horas numa gaiola sem machos. Foi introduzido, na gaiola, substrato e alimento para os adultos. Após 36 horas algumas das fêmeas jovens foram retiradas para o ensaio, ficando 12h em jejum (fêmeas para modalidade 3),
4. As restantes fêmeas virgens mantiveram-se na mesma gaiola da modalidade 3, durante mais 10 dias para que pudessem ficar mais velhas. Após os 12 dias, deixaram-se à fome durante 12 horas para a realização do ensaio de predação (fêmeas para modalidade 4).
5. Os machos que emergiram no mesmo dia foram colocados juntos durante 36 horas. Foi introduzido, na gaiola, apenas alimento para os adultos. Após 36 horas alguns machos foram retirados para o ensaio, ficando previamente 12h à fome (modalidade 5).

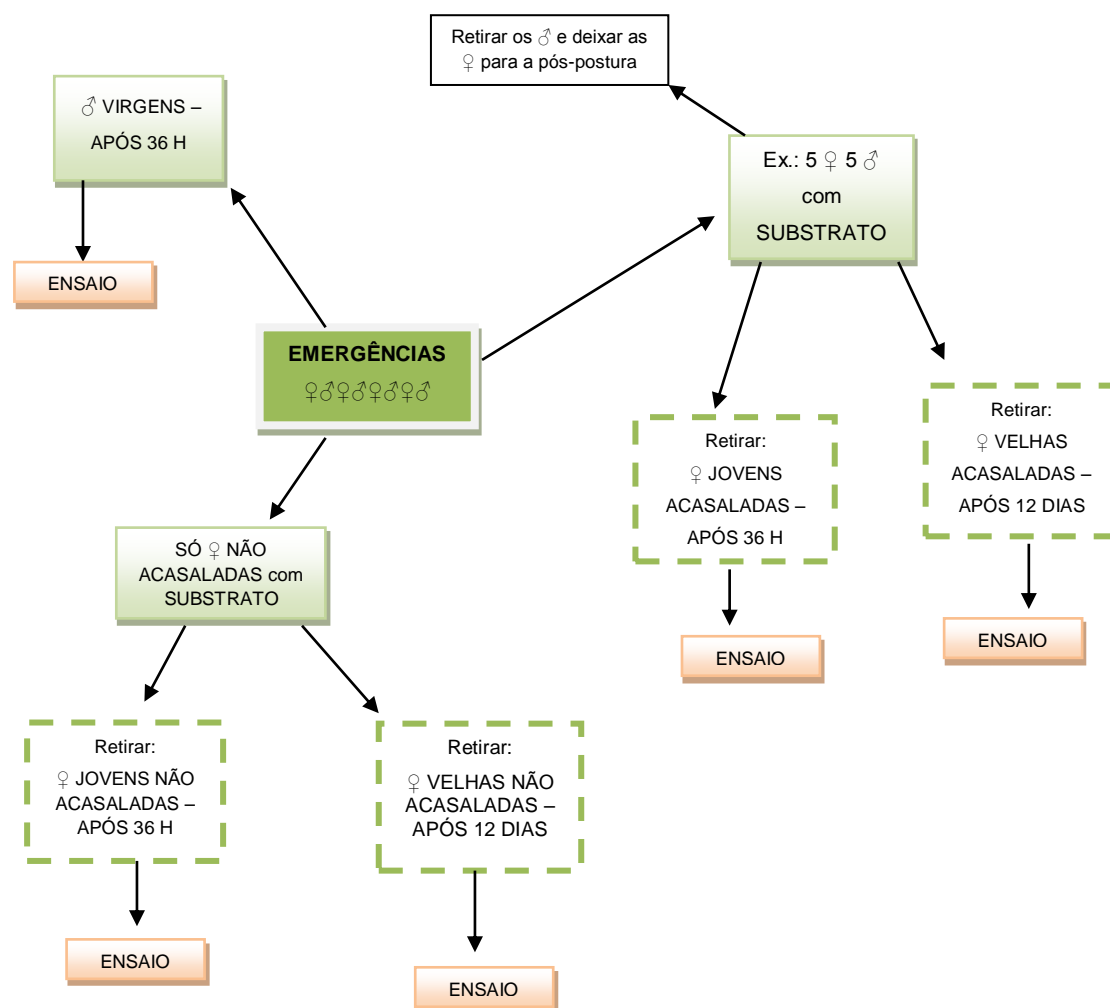


Figura 32 – Metodologia usada para obtenção de predadores para as diferentes modalidades dos ensaios de avaliação e taxas de predação sobre *Diglyphus isaea*.

As gaiolas com os predadores para as diferentes modalidades (Figura 32) foram mantidas à temperatura de 21 ± 3 °C, $60 \pm 10\%$ HR e fotoperíodo de 14 h D: 10 h N.

Para obter adultos de *C. attenuata* para estes ensaios foram usados substratos de criação em que não se conseguiu controlar a disponibilidade alimentar para as larvas (densidades de larvas de esciarídeos eventualmente diferentes), o que poderia influenciar a dimensão dos adultos de *C. attenuata* e, porventura, a sua voracidade e a sua capacidade de predação. Assim, os adultos provenientes de cada substrato de criação foram usados num mesmo bloco de modalidades de mosca-tigre, isto é, consideraram-se as mosca-tigre provenientes de cada substrato de criação como um bloco.

Os ensaios de predação foram desenvolvidos em caixas cilíndricas com 24,5 cm de altura e 17 cm de diâmetro.

Dentro de cada caixa foi colocado apenas um adulto de cada modalidade. O adulto de *C. attenuata* foi colocado na caixa após a introdução de 15 adultos de *D. isaea* e dum poleiro dobrado, igual ao mencionado na alínea anterior (Figura 33).

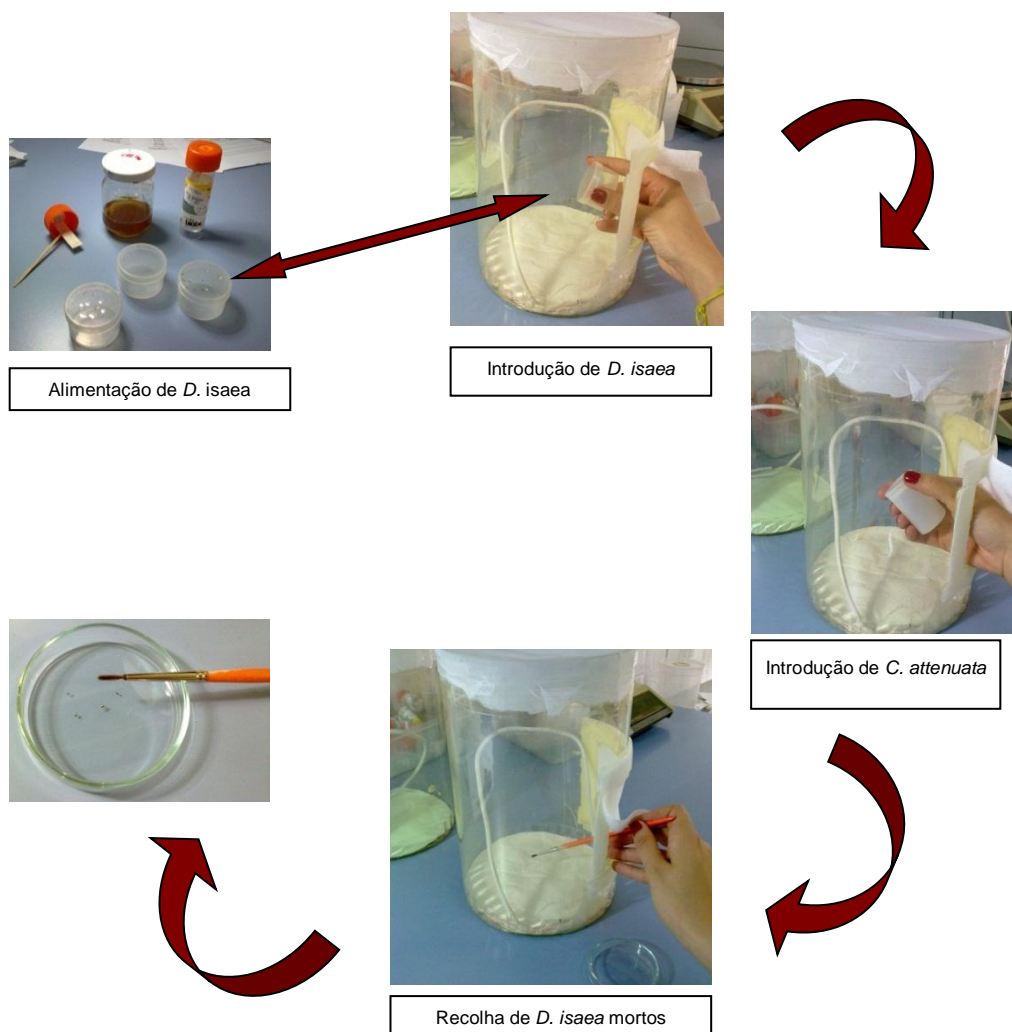


Figura 33 – Esquema da realização do ensaio de predação (originais da autora).

As caixas, já preparadas para a realização dos ensaios de predação, foram, de seguida, colocadas na mesma câmara climatizada para a emergência das pupas. Permaneciam nesta câmara por 24h, havendo observações periódicas ao longo do dia. Recolheram-se *D. isaea* mortos 1h, 4h, 7h, 10h e 24 h após a introdução das presas e de *C. attenuata*.

Os adultos de *D. isaea* mortos, recolhidos do fundo ou das paredes da caixa, foram colocados em Eppendorfs com etanol a 70%, para serem, posteriormente, observados à lupa binocular.

Através da observação à lupa identificou-se quais os adultos de *D. isaea*, que tinham sido predados e quais se encontravam mortos sem sinal de predação.

Após várias observações decidiu-se classificar os diferentes furos encontrados, em três tipos: tipo I – orifício na zona do occipício ou cérvico, *D. isaea* quase intacto; tipo II – orifício na zona do tórax, entre o protórax e o mesotórax ou entre o mesotórax e o metatórax e tipo III ou danificado – tem os tipos de orifício anteriores em conjunto, assim como orifícios no abdómen e o insecto apresenta-se completamente sugado e praticamente irreconhecível (Figura 34).

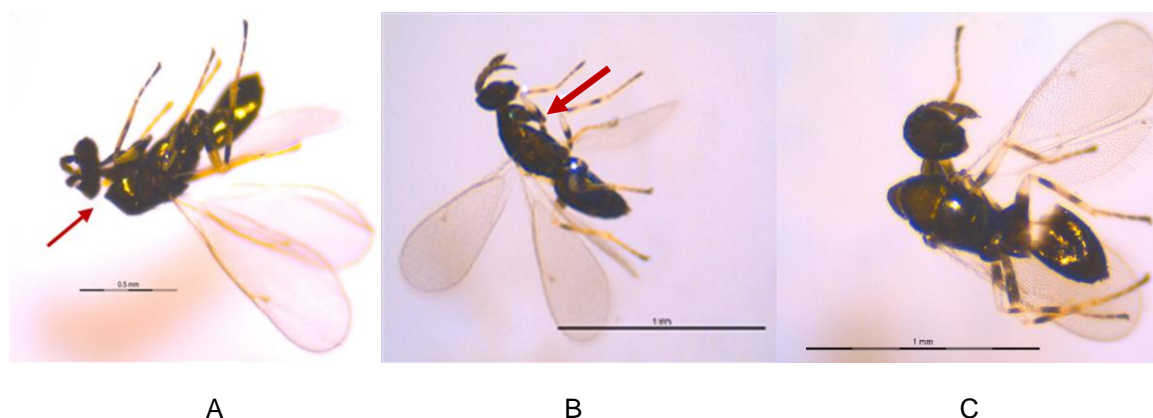


Figura 34 - *Diglyphus isaea* predados por *Coenosia attenuata* com furos do tipo I (A), tipo II (B) e tipo III (C) (originais da autora).

Análise estatística

Para cada caixa registou-se o número da caixa, o número do substrato de criação do qual se retirou as pupas, o sexo (M ou F), a idade (jovem ou velha), o acasalamento (presumivelmente com ou sem), o número de *D. isaea* introduzidos, mortos, predados, mortos não predados, os que sobreviveram no final do ensaio e o tipo de orifício de predação observado (I, II, danificado [III]).

Na apresentação da análise dos resultados, para simplificar, optou-se por chamar “tipo III” ao tipo de orifício denominado “danificados”.

Realizaram-se análises de variância a um factor em blocos casualizados, para a comparação das taxas de predação conforme o número do substrato (Anexo 3, Quadro 1), após verificação dos seus pressupostos. Foram também realizadas análises de variância (modelo geral linear), nos casos em que foram verificados os pressupostos para a realização desta análise estatística, para verificar efeitos de idade e acasalamento nas taxas de predação das diferentes modalidades de fêmeas e do sexo para comparação das modalidades machos e fêmeas virgens jovens (Anexo 3).

Efectuaram-se testes de Mann-Whitney para comparação de fêmeas e machos em relação aos diferentes tipos de orifício (Quadros 6, 7 e 8), para a comparação de machos e fêmeas virgens jovens em relação à predação total de *D. isaea* (Anexo 3, Quadro 3) e para a comparação do Tipo III de predação consoante a idade e o acasalamento para fêmeas (Anexo 3, Quadros 11 e 12).

A análise às quatro modalidades de fêmeas em relação aos três tipos de furo, foi feita tipo a tipo, pois todas as fêmeas de cada modalidade praticaram os três tipos de predação (Anexo 3, Quadros 9, 10 e 11).

A análise estatística dos resultados obtidos foi efectuada recorrendo ao programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 17.0 e IBM SPSS versão 19.0.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando as diferentes modalidades de fêmeas de *C. attenuata* (ANOVA, dois factores (idade e acasalamento), em blocos – substrato) (Quadro 1 do Anexo 3) verificou-se a existência de diferenças significativas para a variável “acasalamento” ($F=6,411$; g.l.=1; $p=0,014$), tendo as fêmeas acasaladas predado, em média, mais *D. isaea* do que as fêmeas virgens (Quadro 5). Contudo, não se verificaram diferenças significativas, para as variáveis “substrato” ($F=1,625$; g.l.=8; $p=0,137$) e “idade” ($F=0,886$; g.l.=1; $p=0,350$), portanto, apesar de haver condições diferentes em cada substrato onde as fêmeas se desenvolveram, estas não são suficientes para influenciar o consumo de presas pelas fêmeas.

A idade das fêmeas escolhida para as modalidades teve em conta a longevidade média observada nas gaiolas de criação (aproximadamente 40 dias a temperaturas entre 21 e 26 °C) e os valores indicados na bibliografia (Kühne, 2000). Considerou-se que aos 12 dias, as fêmeas já teriam idade suficientemente elevada para que se conseguisse detectar diferenças na predação, sem que contudo morressem a meio do ensaio, uma vez que alguns autores (Moreschi e Süß 1998; Martinez e Cocquempot, 2000) indicam que a temperatura e a idade são factores que interferem na actividade de predação e que indivíduos mais velhos se tornam lentos e falham muitas vezes a presa que tentam capturar. Contudo, o número de dias considerado, neste trabalho, não foi suficiente para que a variável idade apresentasse diferenças significativas, na eventualidade da idade influenciar a predação.

Quadro 5 – Taxas de predação de *Diglyphus isaea* para as variáveis “acasalamento” e “idade” para fêmeas de *Coenosia attenuata*.

<i>Acasalamento</i>			<i>Idade</i>	
	Virgens	Acasaladas	Jovens	Velhas
<i>Média ± SE</i>	10,12 ± 0,627	12,05 ± 0,389	11,53 ± 0,448	10,74 ± 0,611
N	33	37	36	34

Detectaram-se diferenças significativas entre machos virgens jovens e fêmeas virgens jovens em relação ao número total de *D. isaea* predados ($U = 54,500$; $Z = -2,590$; $p = 0,010$) (Anexo 3, Quadro 3), sendo que, em média, as fêmeas virgens jovens predam maior número de indivíduos do que os machos ($10,94 \pm 0,24$ e $7,36 \pm 0,89$; respectivamente) (Anexo 3, Quadro 4).

Verificou-se a existência de diferenças significativas entre fêmeas e machos em relação ao tipo de orifício I ($U = 321,000$; $Z = -2,271$; $p = 0,023$). As fêmeas executaram, em média, mais furos do Tipo I que os machos (Quadros 6, 7 e 8). Quanto aos tipos de furo II e III, não se observaram diferenças entre fêmeas e machos (Quadro 8).

Quadro 6 – Média e erro padrão da média para o tipo de orifício de predação apresentado por *Diglyphus isaea* predados por fêmeas das diferentes modalidades de idade e acasalamento.

<i>Tipo de predação</i>	<i>Média</i>	<i>Erro padrão (SE)</i>	<i>N</i>
I	0,238	0,023	74
II	0,601	0,025	74
III	0,160	0,015	74

Quadro 7 – Média e erro padrão da média para o tipo de orifício de predação apresentado por *Diglyphus isaea* predados por machos virgens jovens.

<i>Tipo de predação</i>	<i>Média</i>	<i>Erro padrão (SE)</i>	<i>N</i>
I	0,112	0,036	14
II	0,662	0,072	14
III	0,224	0,071	14

Quadro 8 - Teste de Mann-Whitney para a comparação dos diferentes tipos de orifício de predação provocados por machos e fêmeas de *Coenosia attenuata* em *Diglyphus isaea*.

	<i>Tipo I</i>	<i>Tipo II</i>	<i>Tipo III</i>
Mann-Whitney U	321,000	412,000	480,000
Wilcoxon W	426,000	3187,000	3255,000
Z	-2,271	-1,210	-0,436
p	0,023	0,226	0,663

Tendo em conta apenas as quatro modalidades de fêmeas, tentou-se perceber se as variáveis acasalamento e idade influenciaram os três tipos de orifício realizados (Figura 35 e 36).

Assim, constatou-se que a idade e o acasalamento não influenciaram o número de indivíduos predados com o orifício de tipo I (Anexo 3, Quadros 9 e 13) e que foram as fêmeas velhas realizavam mais orifícios de tipo II na sua predação (Anexo 3, Quadros 10 e 13). Quanto aos ataques com orifícios do tipo III, verificou-se diferenças significativas em relação ao acasalamento, mas não na idade, sendo as fêmeas acasaladas as que predam, em média, mais *D. isaea* praticando o orifício de Tipo III (Anexo 3, Quadros 11, 12 e 13).

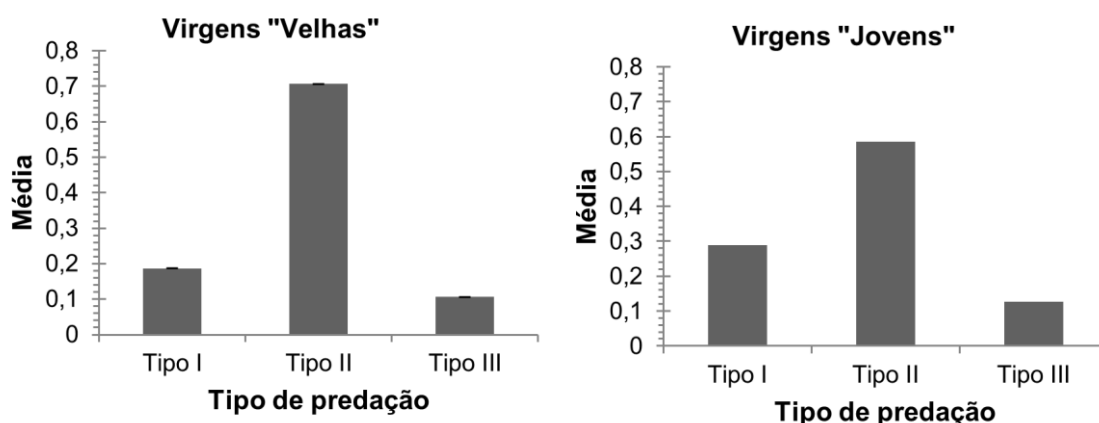


Figura 35 – Número de indivíduos de *Diglyphus isaea* predados com cada um dos três tipos de orifício por fêmeas de *Coenosia attenuata* das modalidades virgens, “jovens” e “velhas”.

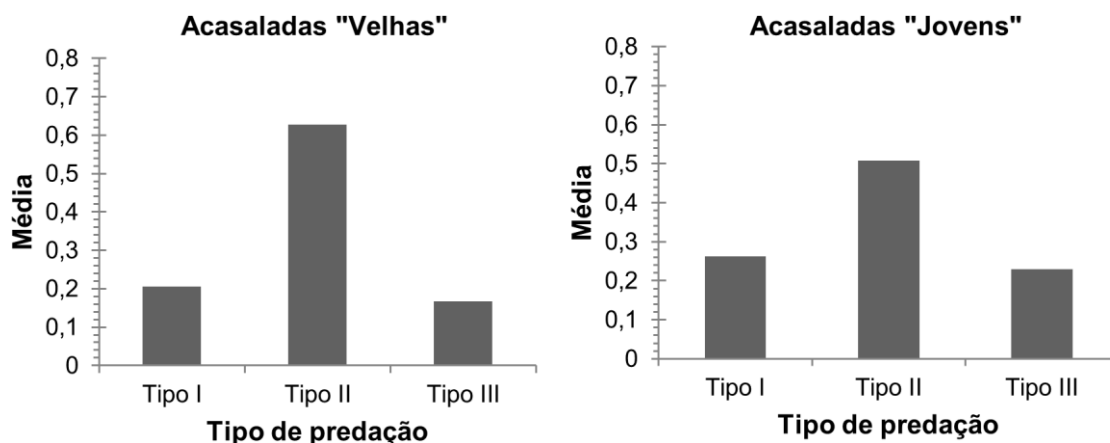


Figura 36 – Número de indivíduos de *Diglyphus isaea* predados com cada um dos três tipos de orifício por fêmeas de *Coenosia attenuata* acasaladas, “jovens” e “velhas”.

O tipo de orifício pode indicar a voracidade de *C. attenuata*, sendo os furos do Tipo II e III os associados a um maior consumo da presa, uma vez que estas se apresentam mais danificadas/ sugadas.

O facto de terem sido as fêmeas acasaladas as que predaram, em média, mais *D. isaea* utilizando o furo de tipo III, pode indicar que são estas fêmeas que apresentam uma maior voracidade. Esta diferença no consumo de presas com furos do tipo III poderá ser explicada pela necessidade de alimento que estas fêmeas precisam para produzirem os seus ovos.

Quanto à análise dos consumos de *D. isaea* por *C. attenuata* registados em cada hora de observação (1^a, 4^a, 7^a, 10^a e 24^a horas), para cada modalidade estudada, apresentam-se os dados obtidos de três formas (Figuras 37 a 41): nos gráfico A indica-se o consumo de cada modalidade, ou seja, o número de indivíduos predados / número de presas disponíveis por cada hora de observação (1^a, 4^a, 7^a, 10^a e 24^a horas); nos gráficos B apresenta-se o número de insectos predados registados no final de cada período; nos gráficos C apresenta-se os consumos por hora, ou seja, o número de presas consumidas em cada hora para cada período de observação (por exemplo, na 4^a hora é indicado o número de presas que *C. attenuata* consumiu por hora entre a 1^a e a 4^a hora de observação).

Relativamente à modalidade “fêmea virgem jovem” (Figura 37), observa-se que foi na 1^a hora que predaram mais *D. isaeae* e que o consumo foi diminuindo ao longo dos períodos de observação (Fig. 37C), embora sobretudo no último destes (10-24h) o número de predados tenha correspondido ao número de disponíveis (Fig. 37A).

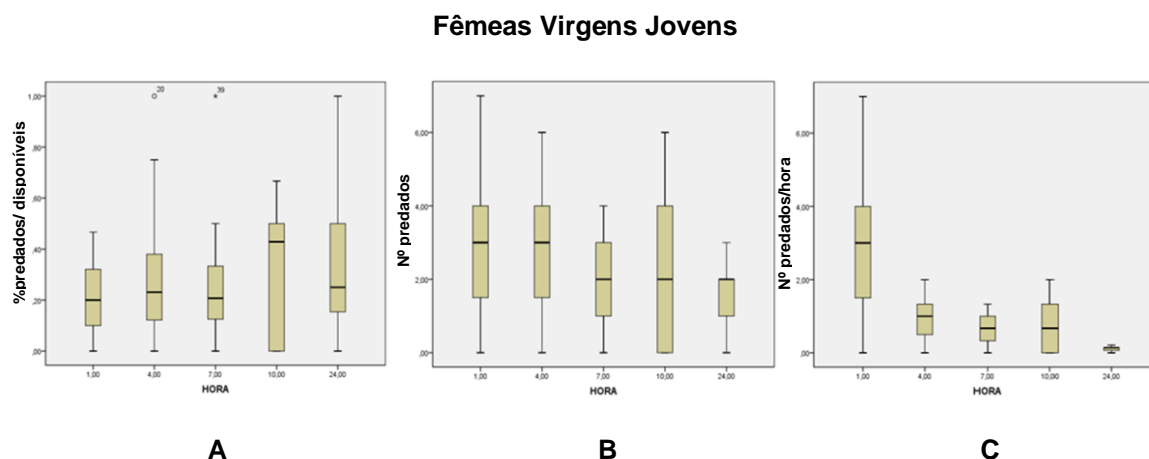


Figura 37 – Distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados/ hora (durante as 24 horas do ensaio) (C), para a modalidade fêmea virgem “jovem” de *Coenosia attenuata* predando *Diglyphus isaea*.

No caso das fêmeas acasaladas “jovens” (Figura 38), verificou-se que o número de predados se manteve estável nos dois primeiros períodos (Fig. 38 B) e que tal como se observou no caso anterior, estas fêmeas apresentam uma maior taxa de predação na primeira hora do ensaio (Fig. 38C). Ao longo das 24 horas foram consumindo cada vez menos presas por hora (Fig. 37C), mas neste caso, só numa repetição este valor baixo pode ter sido dependente da baixa disponibilidade de presas (Fig. 38 A).

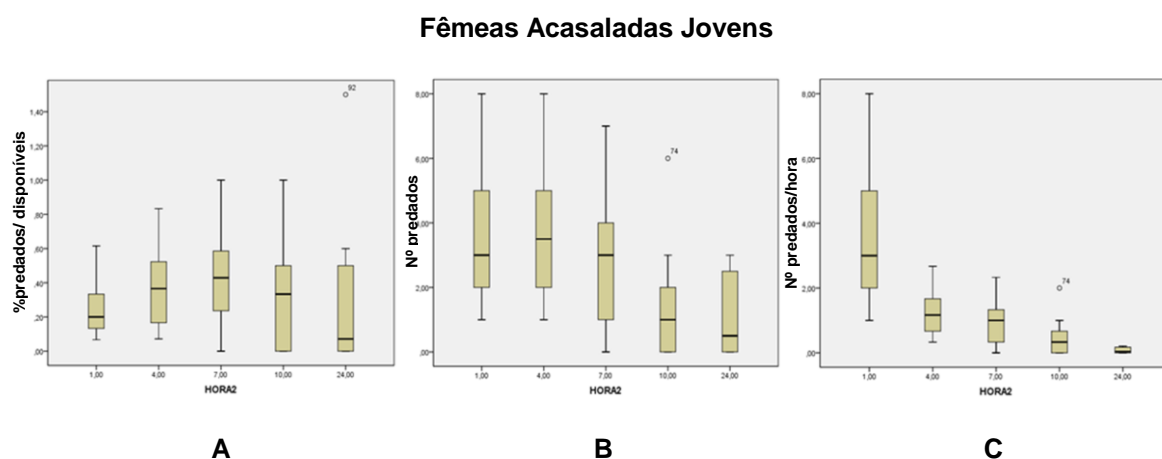


Figura 38 – Distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados/ hora (durante as 24 horas do ensaio) (C), para a modalidade fêmea acasalada “jovem” de *Coenosia attenuata* predando *Diglyphus isaea*.

A análise aos gráficos de fêmeas acasaladas “velhas” (Figura 39) O gráfico C, apresenta a mesma disposição que nas modalidades analisadas anteriormente, ou seja, o consumo horário nesta modalidade vai diminuindo ao longo das 24 horas de ensaio.

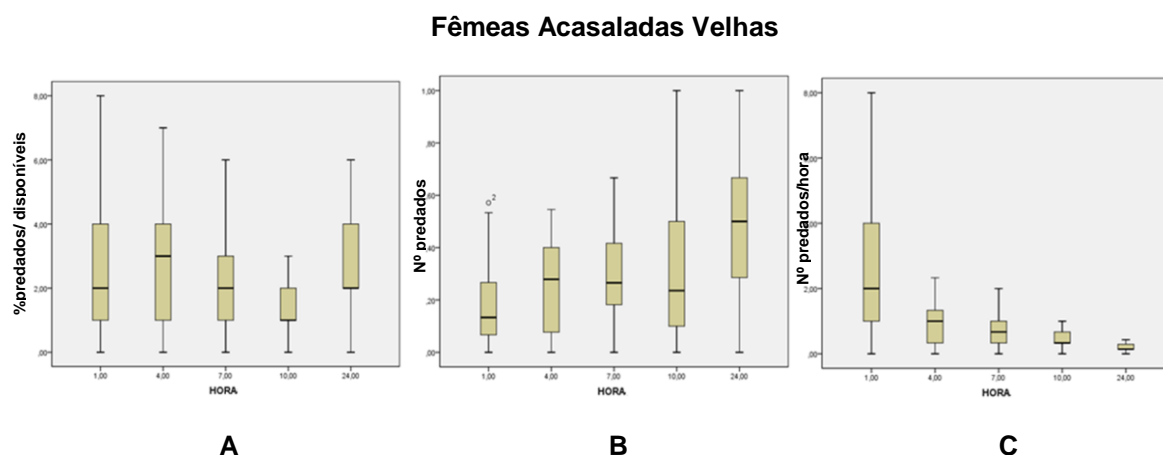


Figura 39 – Distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados/ hora (durante as 24 horas do ensaio) (C), para a modalidade fêmea acasalada “velha” de *Coenosia attenuata* predando *Diglyphus isaea*.

As fêmeas virgens velhas (Fig. 40A) na última hora apresentaram um maior consumo de presas (Fig. 40B), embora a essa hora já existam poucas presas disponíveis (Fig. 40A). A taxa de predação / hora também diminuiu do 1º para o último período de observação (Fig. 40C).

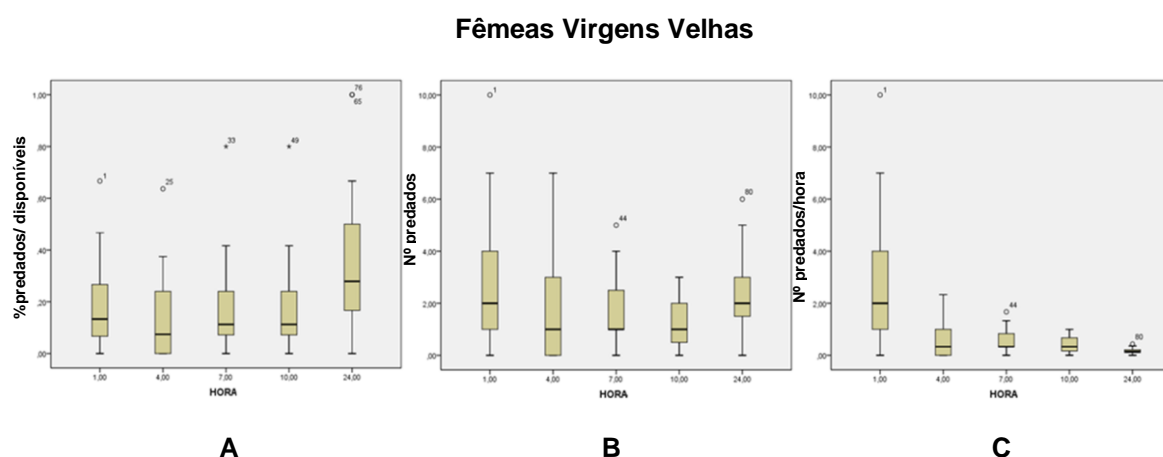


Figura 40 – Distribuição dos valores de %Predados/Disponíveis (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados/ hora (durante as 24 horas do ensaio) (C), para a modalidade fêmea virgem “velha” de *Coenosia attenuata* predando *Diglyphus isaea*.

No caso dos machos (Figura 41C), o decréscimo da taxa horária de predação não é tão grande como no caso das fêmeas, salvo no último período, onde está incluída a noite. Analisando a Figura 41, pode-se confirmar o que foi revelado pelos testes estatísticos anteriores que indicaram que os machos predam, em média, menos que as fêmeas. Os machos apresentam uma maior heterogeneidade no que se refere ao consumo horário ao longo dos períodos de observação e o seu decréscimo ao longo do tempo é menos pronunciado.

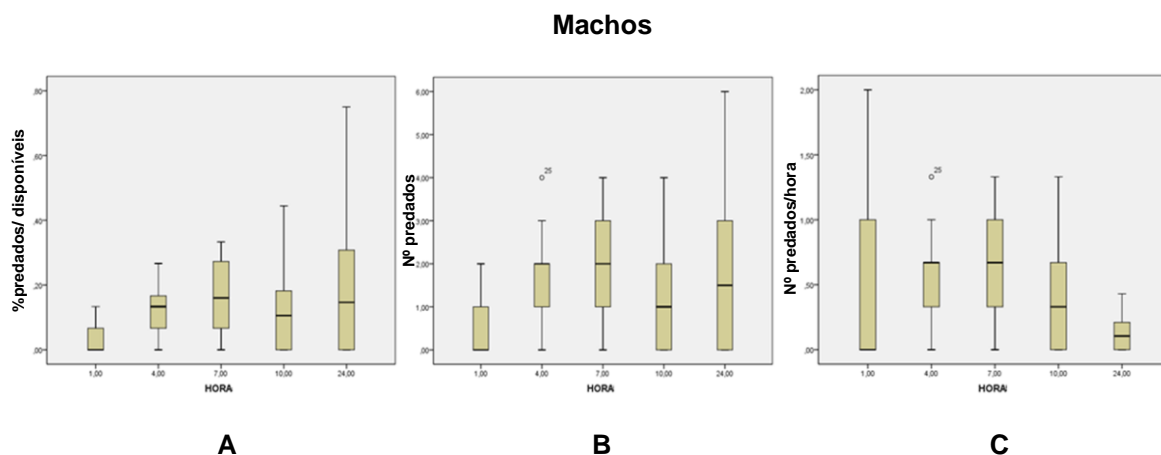


Figura 41 – Distribuição dos valores do consumo (%Predados/Disponíveis) (A), do Nº de predados (B) e do Nº de predados/ hora (durante as 24 horas do ensaio) (C), para a modalidade macho de *Coenosia attenuata* predando *Diglyphus isaea*.

É de salientar que através dos gráficos C de todas as modalidades, consegue-se perceber que é na 1ª hora de observação que há um maior consumo de presas. Este facto está relacionado com as horas de jejum que cada indivíduo foi sujeito antes do ensaio e deve corresponder a uma taxa máxima de predação desta presa.

Em qualquer dos casos das fêmeas o nº de predados/ hora baixa muito do 1º para o segundo período, nos machos a taxa horária é mais estável (parece que não estão tão “esfomeados”) depois do jejum. Em alguns casos de machos e de fêmeas virgens “jovens” a falta de alimento pode ter sido restritivo de maior predação no último período. Aparentemente as fêmeas virgens “velhas” (Fig. 39) consumiram menos do que as fêmeas acasaladas “velhas” (Fig. 40) embora com um padrão semelhante.

5. CONCLUSÕES

No que respeita à criação de *C. attenuata* é de destacar a dificuldade na sua manutenção em condições laboratoriais, uma vez, que exige um cuidado diário, limpeza constante e controlo continuado das condições de temperatura e humidade da câmara de criação e aprovisionamento regular de presas em número suficiente para evitar o canibalismo.

Em termos de aplicação prática, para a obtenção contínua de um elevado número de emergências, numa criação em massa, é essencial conseguir controlar factores como: o número de larvas de esciarídeos no substrato, que tem de ser o mais elevado possível e conter um desfasamento de instares larvares; os valores de temperatura e humidade da câmara de criação, assim como os teores de humidade do substrato.

Na criação de *C. attenuata*, a análise realizada ao efeito do número de casais e sua origem revelou que dos progenitores de campo resultou uma taxa de sucesso de emergências maior que dos de laboratório. E, com o aumento do número de casais nas gaiolas, não variou também, em média, o número total de indivíduos emergidos por casal.

No caso dos progenitores de laboratório, constatou-se que os casais com fêmeas reutilizadas para novas posturas (acasaladas, com aproximadamente 20 dias) apresentaram um maior número de emergências e uma maior taxa de mortalidade de fêmeas, em relação aos casais com fêmeas virgens recém-emergidas.

Quanto às larvas de esciarídeos existentes no substrato, verificou-se que um aumento do número de larvas correspondeu a um aumento no número total de emergências, assim como um aumento do período de emergências de *C. attenuata*, este último parâmetro, associado ao desfasamento dos instares larvares dos esciarídeos. No entanto, é de salientar que a determinação do número de larvas de esciarídeos existente no substrato na altura em que também aí existem larvas de *C. attenuata* é uma tarefa bastante difícil. É necessário, no futuro, desenvolver métodos que permitam ter um maior controlo sobre este aspecto para se poder aumentar o número de indivíduos emergidos.

Na comparação da duração do período de “acasalamento, postura e desenvolvimento” (APD) em função da origem dos progenitores, observou-se que os progenitores de laboratório apresentam um período de APD maior do que os progenitores de campo. O aumento da temperatura mínima, máxima ou média reflectiu-se numa diminuição da duração deste período de APD.

A comparação da razão sexual para os indivíduos emergidos, não revelou diferenças estatisticamente significativas, tanto para o número de casais como para a origem (Laboratório/ Campo).

Verificou-se que com o aumento de casais nas gaiolas, aumentou, em média, a duração do período em que ocorriam emergências. Esse aumento foi mais notório entre gaiolas com um e cinco casais, assim como, entre um e 10 casais, não havendo diferenças significativas entre cinco e 10 casais.

Relativamente à otimização do substrato de criação, obteve-se diferente número de larvas de esciarídeos em cada um dos três tipos de substratos testados, o que poderá ter influenciado a análise dos parâmetros de *C. attenuata*: número total de indivíduos emergidos, duração do período de APD e duração do período de emergências. No entanto, todos os substratos apresentaram um elevado número de larvas de esciarídeos, suficiente para a ocorrência de emergências.

Ao comparar-se o número total de indivíduos emergidos de *C. attenuata* nos três tipos de substrato, verificou-se um maior número de emergências no substrato M (mistura de terra com fibra de coco), tendo este apresentado também um valor maior de razão sexual, ou seja, foi nele que houve mais emergências de fêmeas relativamente a machos.

Tal como verificado nos resultados relativos à criação de *C. attenuata*, nos ensaios de substratos registou-se uma diminuição da duração do período de APD com o aumento da temperatura mínima, máxima ou média.

Na avaliação da taxa de predação sobre *Diglyphus isaea* verificou-se que há diferenças entre fêmeas de *C. attenuata* acasaladas e fêmeas virgens. As fêmeas acasaladas predam, em média, mais *D. isaea*. Constatou-se que apesar de haver condições diferentes em cada substrato de criação onde as fêmeas se desenvolveram, estas não foram suficientes para influenciar a taxa de consumo de presas por parte dessas fêmeas.

Detectaram-se diferenças estatisticamente significativas entre machos virgens jovens e fêmeas virgens jovens em relação ao número total de *D. isaea* predados, sendo que, em média, as fêmeas virgens jovens predaram maior número de indivíduos do que os machos.

Relativamente aos tipos de furo provocados por *C. attenuata* sobre as suas presas, observou-se que as fêmeas executaram mais furos do tipo I que os machos. Quanto aos tipos de furo II e III, as fêmeas realizaram, em média, praticamente o mesmo que os machos. De realçar que, neste trabalho, se associou uma maior voracidade aos furos tipo III, por corresponderem a presas mais sugadas no final do processo de alimentação do predador.

Tendo em conta apenas as quatro modalidades de fêmeas testadas, verificou-se que a idade e o acasalamento não influenciaram o número de indivíduos predados com o furo de tipo I e foram as fêmeas velhas que predaram mais do tipo II. Quanto aos ataques com furos do tipo III, registaram-se diferenças estatisticamente significativas no acasalamento, mas não na idade, sendo que as fêmeas acasaladas predaram, em média, maior número de indivíduos *D. isaea* executando o furo de tipo III do que as outras fêmeas, o que corresponderá a uma maior voracidade por parte das fêmeas acasaladas.

Quanto à análise do consumo de *D. isaea* por *C. attenuata* em cada hora de observação, verificou-se que todas as fêmeas realizaram um consumo de *D. isaea* maior na primeira hora, e o número de predados por hora ia diminuindo ao longo das 24 horas. Os machos apresentaram uma distribuição do consumo diferente do das fêmeas, não existindo um decréscimo tão acentuado no consumo por hora ao longo das 24 horas.

Para o melhor conhecimento deste predador que está em fase de avaliação relativamente à eficácia no controlo de pragas, ainda existe um longo caminho para aprofundar os conhecimentos relativos à sua biologia, comportamento e criação. Embora se tenha verificado bons resultados na criação, é necessário um aperfeiçoamento das técnicas, de forma a conseguir-se mais indivíduos, tanto para possíveis largadas ou criação em sistema “open rearing”, como para utilização em próximos ensaios laboratoriais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blind, M. P., 1999.** Biological control of insect pests by predators, parasitoids and entomopathogenic fungi in the Netherlands from a practical point of view. *Phytoparasitica* 27:75.
- Carvalho, J. P., 1986.** Introdução à entomologia agrícola. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 361pp.
- Colombo, M., Eördegh, F. R., 1991.** Ritrovamento di *Coenosia attenuata*, attivo predatore di aleirodidi, in colture protette in Liguria e Lombardia. *Informatore Agrario* 47: 187-189.
- Eilenberg, J., Enkegaard, A., Vestergaard, S., Jensen, B., 2000.** Biocontrol of pests on plant crops in Denmark: present status and future potential. *Biocontrol Science and Technology* 10: 703-716.
- Evans, A. M., 1930.** Observations on the predacious habits and prey of *Coenosia humilis* Mg. (Anthomyiidae). *Trans. Entomol. Soc. London* 78: 325-329.
- Freidberg, A., Gijswijt, M. J., 1983.** A list and preliminary observations on natural enemies of the leaf miner, *Liriomyza trifolii* Burgess (Diptera: Agromyzidae) in Israel. *Isr. J. Entomol.* 17: 115-116. (cit in: Sensenbach, 2004)
- Gilioli, G., Baumgärtner, J., Vacante, V., 2005.** Temperature influences on functional response of *Coenosia attenuata* (Diptera: Muscidae) individuals. *J. Econ. Entomol.*, 98(5): 1524-1530.
- Gullan P. J., Cranston, P. S., 1994.** The insects: An Outline of entomology. Chapman & Hall, London, 491pp.
- Hennig, W., 1964.** Muscidae, Gattung *Coenosia* Meigen, section 63b, pp.518-619. In E. Lindne, ed. *Die Fliegen der Palaearktischen Region* 7(2) (1955-1964). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, Germany.

Hoebeke, E. R., Sensenbach, E. J., Sanderson, J. P., Wraight, S. P., 2003. First report of *Coenosia attenuata* Stein (Diptera: Muscidae), an Old World 'hunter fly' in North America. Proc. Entomol. Soc. Wash. 105: 769-775.

Kühne, S., Forstner, D., Dahl, U., Schiller, K., 1997a. Greift ihre Beute in der Luft und kann auch im Boden aufräumen. TASPO-Gartenbaumagazin 6: 5-7.

Kühne, S., Schiller, K., Dahl, U., 1997b. Beitrag zur Lebensweise, Morphologie und Entwicklungsdauer der räuberische Fliege *Coenosia attenuata* Stein (Diptera: Muscidae). Gesunde Pflanzen 49: 100-106.

Kühne, S., Schrameyer, K., Müller, R., Menzel, F., 1994. Räuberische Fliegen: ein bisher wenig beachteter Nützlingskomplex in Gewächshäusern. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft. 302: 1-75.

Kühne, S., 1998. Open rearing of generalist predators: a strategy for improvement of biological pest control in greenhouses. Phytoparasitica 26(4): 277-281.

Kühne, S., 2000. Räuberische Fliegen der Gattung *Coenosia* Meigen, 1826 (Diptera: Muscidae) und die Möglichkeit ihres Einsatzes bei der biologischen Schädlingsbekämpfung. Studia Dipterologica Supplement 9 (2000): 78 pp.

LeRoux, E. J., Perron, J. P., 1960. Descriptions of immature stages of *Coenosia tigrina* (F.) (Diptera: Anthomyiidae), with notes on hibernation of larvae and predation by adults. Can. Entomol. 92: 284-296.

Malais, M. H., Ravensberg, W. J., 1992. Knowing and recognizing, the biology of glasshouse pests and their natural enemies. Koppert BV/Reed Business Information.

Martinez, M., Cocquempot, C., 2000. La mouche *Coenosia attenuata* nouvel auxiliaire prometteur en culture protégée. Phm-Revue Horticole, 414: 50-52.

Martínez-Sánchez, A., Marcos-García, A., Pont, A. C., 2002. *Coenosia attenuata* Stein, 1903 (Diptera: Muscidae) nueva especie para la fauna Neotropical. Bollettino de Zoologia Agraria e di Bachicoltura 34(2): 269-272.

Moreschi, I., 1999. Predatori del genere *Coenosia* in serra della Lombardia. L'Informatore Agrario 15: 109 – 112.

Moreschi, I., Süß, L., 1998. Osservazioni biologiche ed etologiche su *Coenosia attenuata* Stein e *Coenosia strigipes* Stein (Diptera : Muscidae). Boll. Zool. Agrar Bachi., Ser. II 30: 185-197.

Moreschi, I., M. Colombo, 1999. Una metodica per l'allavamento dei Ditteri predatori *Coenosia attenuata* e *C. strigipes*. Informatore Fitopatologico 7-8: 61-64.

Morris, D. E., Cloutier, C., 1987. Biology of the predatory fly *Coenosia tigrina* (Fab.) (Diptera: Anthomyiidae): reproduction, development, and larval feeding on earthworms in the laboratory. Can. Entomol. 119: 381-393.

Pinho, V., Mateus, C., Rebelo, M. T., Kühne, S., 2009. Distribuição espacial de *coenosia attenuata* (Díptera: Muscidae) e das suas presas em estufas de hortícolas na região Oeste, Portugal. Bol.San. Veg. Plagas, 35: 231-238.

Pohl, D., Uygur, F. N., Sauerborn, J., 2003. Fluctuations in population of the first recorded predatory fly *Coenosia attenuata* in cotton fields in Turkey. *Phytoparasitica*, 31(5): 446-449.

Pons, L., 2005. Greenhouse Pests Beware. *Agricultural Research*, 53(10): 7.

Pont, A. C., 1986. Muscidae, pp. 57-215. In Á. Soós and L. Papp, eds. Catalogue of Palaearctic Diptera. Vol. 11 (Scathophagidae –Hypodermatidae). Elsevier Science Publishing Co., Budapest, Hungary. (*cit in: Sensenbach, 2004*)

Prieto, R., 2002. Dípteros predadores do género *Coenosia* Meigen em culturas hortícolas protegidas na região Oeste. Trab. Fim Curso, ISA/UTL, Lisboa, 64 pp.

Prieto, R., Figueiredo, E., Mexia, A., 2005. *Coenosia attenuata* Stein (Diptera: Muscidae): prospecção e actividade em culturas protegidas em Portugal. *Bol.San. Veg. Plagas*, 31(1): 39-45.

Rodriguez-Rodriguez, M. D., Aguilera-Lirola, A. M., 2002. *Coenosia attenuata*, una nueva mosca a considerar en el control biológico de las plagas hortícolas. *Phytoma España*, 141: 27-34.

Schrameyer, K., 1991. Die räuberischen Fliegenarten (*Coenosia attenuata*, *C. humilis*) ein bedeutender Faktor der biologischen Schädlingsbekämpfung. Gesunde Pflanzen 43: 398-400.

Sensenbach, E. J., 2004. *Coenosia attenuata* Stein (Diptera: Muscidae): a predatory fly in North American greenhouses. M.S. thesis, Cornell University, Ithaca, NY.

Sensenbach, E. J., Wraight, S. P., Sanderson, J. P., 2005. Biology and predatory feeding behavior of the hunter fly *Coenosia attenuata*. IOBC/WPRS Bull. 28: 229 – 232.

Skidmore, P., 1985. The biology of the Muscidae of the world. Ed: Spencer, K.A. Kluwer Academic Publishers Group, Dordrecht. Series Entomologica, vol. 29, 550pp.

Téllez, M., Tapia, G., 2006. Acción depredadora de *Coenosia attenuata* Stein (Diptera: Muscidae) sobre los otros enemigos naturales en condiciones de laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, 32: 491-498.

Téllez, M., Tapia, G., Gamez, M., Cabello, T., Emden, H., 2009. Predation of *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae), *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) by *Coenosia attenuata* (Diptera: Muscidae) in greenhouse crops. *Eur. J. Entomol.* 106: 199:20.

Ugine, Todd A., Sensenbach, E. J., Sanderson, J. P., Wraight, S. P., 2010. Biology and Feeding Requirements of Larval Hunter Flies *Coenosia attenuata* (Diptera: Muscidae) Reared on Larvae of the Fungus Gnat *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Journal of Economic Entomology*. 103 (4) : 1149 -1158.